

# 苯并异噻唑啉酮类衍生物的制备与生物活性测试

许凤玲<sup>1</sup>, 蔺存国<sup>1</sup>, 刘秀丽<sup>2</sup>, 徐伟<sup>3</sup>

(1. 中船重工七二五所 海洋腐蚀与防护国防科技重点实验室, 山东 青岛 266071; 2. 青岛中石油昆仑天然气利用有限公司, 山东 青岛 266071; 3. 青岛保税港区管理委员会, 山东 青岛 266071)

**摘要:** 以 1,2-苯并异噻唑-2(3H)-酮为原料合成了 3-羰基苯并异噻唑-2(3H)-苯甲酸甲酯衍生物, 目标化合物的结构经元素分析、<sup>1</sup>H NMR 和质谱确证。化合物对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、溶藻弧菌、嗜水气单胞菌、枯草芽孢杆菌 5 种海洋菌的抑菌活性结果表明, 化合物对上述菌种均有不同程度的抑制作用, 其中对大肠杆菌活性最高, 化合物浓度仅为 10<sup>-6</sup> mol/L 时, 相对抑菌率均达到 90% 以上。

**关键词:** 防污剂; 苯并异噻唑啉酮; 合成; 生物活性

中图分类号: O 621.3

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2011)04-0067-03

海洋生物污损是指海洋污损生物(包括海洋微生物、海洋植物和海洋动物)附着在海洋人工设施上造成的危害<sup>[1]</sup>。生物污损会引起金属腐蚀, 增加船体运行阻力, 影响养殖质量。而目前市场上广泛应用的海洋防污剂为铜基等含重金属离子的物质, 不利于生态环境的保护, 因而开发绿色防污剂成为当务之急。生物污损主要是由于在海洋工程表面海洋菌引起生物膜的形成, 继而产生污损生物的附着, 所以抑制海洋菌可以有效抑制生物污损, 研制开发具有抑制海洋菌的绿色防污剂成为防污的一种重要手段。

异噻唑啉酮类化合物在杀藻抑菌方面有着很高的生物活性<sup>[2-3]</sup>。美国 ROHM & HAAS 公司于 20 世纪 90 年代初首先将 4,5-二氯-2-正辛基-4-异噻唑-3-酮(DCOI)开发成功并以 Sea-Nine 211 为商标投放市场, 相关的研究证明 DCOI 是一种环保型海洋防污剂, 被称为绿色防污剂<sup>[4-5]</sup>。鉴于此我们合成了苯并异噻唑啉酮的衍生物, 并对其进行了结构分析, 与初步生物活性测试。

## 1 材料与方法

### 1.1 合成

#### 1.1.1 仪器与试剂

XT4-100A 显微熔点仪(控温型, 北京科仪电光仪器厂), BRUKER av-400 型核磁共振仪(瑞士布鲁克仪器有限公司), 气质联机 Agilent 6890GC/5973MSD(美国 Agilent 仪器有限公司, 溶剂丙酮为色谱试剂纯, 进样口温度 280°C), MT23 型元素分析

仪(日本柳本公司)。所用试剂未经说明, 均为市售分析纯, 三乙胺与丙酮用前干燥, 其余试剂未经处理。

每一步反应中均采用自制的硅胶(青岛海洋化工厂生产, 200~300 目)薄层板跟踪反应, 用碘蒸汽显色或紫外灯显色; 柱层析的硅胶为 160~200 目(青岛海洋化工厂生产)。

#### 1.1.2 中间体 2-羟甲基苯并异噻唑-3(2H)-酮的合成

在装有搅拌器、回流冷凝管、温度计的 100 mL 四口反应瓶中, 加入苯并异噻唑啉酮 15.2 g(0.1 mol), 多聚甲醛 3.3 g(0.11 mol), 氯仿 50 mL, 搅拌滴加 0.2 mL 三乙胺, 加热回流 5 h, 反应液变澄清, 停止反应。将反应液脱溶, 残液倒入培养皿中, 在红外灯下干燥, 得到 14.3 g 白色固体为羟甲基苯并异噻唑啉酮。收率 79.0%, 熔点 146~147°C(文献值: 大于 140°C)<sup>[6]</sup>。

#### 1.1.3 标题化合物的合成

在装有搅拌器、冷凝管、温度计的 50 mL 反应瓶中, 加入 1.8 g(10 mmol)羟甲基苯并异噻唑啉酮, 1.1 g(11 mmol)三乙胺和 20 mL 已经干燥处理过的丙酮。冰水浴冷却、搅拌下滴加 10 mmol 取代苯甲酰氯的 10 mL 丙酮溶液, 反应立即进行, 生成大量的白色沉淀, 滴加完毕, 撤去冰水浴, 搅拌回流反应 2 h, 反应液为淡黄色, 过滤, 滤液减压蒸馏得淡黄色液体, 冷却得淡黄色固体。柱层析(石油醚 : 乙酸乙

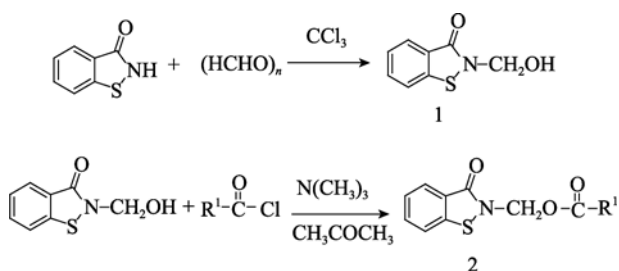
收稿日期: 2010-03-23; 修回日期: 2010-07-16

基金项目: 国家自然科学基金项目(40376023)

作者简介: 许凤玲(1980-), 女, 山东莱芜人, 博士, 工程师, 主要从事海洋化学研究, 电话: 0532-85843220, Email: xufengling1980@yahoo.com.cn

酯 = 3 : 1)得纯品。

采用上述类似方法制得 4 个目标化合物, 其物理常数见表 1。合成路线如下:



2a. R<sup>1</sup>=C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>; 2b. R<sup>1</sup>=4-FC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>; 2c. R<sup>1</sup>=3,5-Me<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>3</sub>

图 1 标题化合物的合成路线

Fig. 1 Synthetic routes of title compounds

表 1 标题化合物的物性参数

Tab. 1 Physical data of title compounds 2a~2c

编号	R 基团	状态	收率(%)	熔点(°C)
2a	R <sup>1</sup> =C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	淡黄色固体	66	114 ~ 116
2b	R <sup>1</sup> =4-FC <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	黄色固体	72	95 ~ 96
2c	R <sup>1</sup> =3,5-Me <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>3</sub>	黄色固体	69	109 ~ 111

## 1.2 生物活性测试

对合成的化合物进行了大肠杆菌(*Escherichia coli*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、溶藻弧菌(*Vibrio Alginolyticus*)、嗜水气单胞菌(*Aeromonas hydrophila*)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)5 种海洋菌的抑菌实验。方法如下: 在 1.5 mL 的离心管内加入 890 μL 液体培养基、10 μL 菌悬液和 100 μL 不同

浓度的药品(对照实验为未放药品的空白实验), 放在振荡培养箱内 28 °C 培养 24 h。将培养 24 h 后的菌-药的混合液进行稀释, 取 100 μL 已稀释好的菌液, 在平板上涂布并培养 24 h 后, 计算菌落数, 以确定该药物的杀菌效果。

## 2 结果与讨论

### 2.1 合成

合成化合物的光谱学数据见表 2、表 3。

#### 2.1.1 核磁共振氢谱分析

所合成的标题化合物核磁共振氢谱中, 不同环境的质子的化学位移值列于表 2。<sup>1</sup>H NMR 中, 所有化合物中均出现化学位移基本相同的芳基氢和 N—CH<sub>2</sub>—。由于受到酰胺基及酯基的共同的吸电子诱导效应, N—CH<sub>2</sub>—上氢原子周围电子云密度减小, 质子所受到的抗磁性屏蔽(σ<sub>d</sub>)减小, 所以共振发生在较低场, 位移值较大, 在 6.0 × 10<sup>-6</sup> 附近。化合物 2a~2c 中 N—CH<sub>2</sub>—上氢原子由于同时受到酰胺基和苯甲酸基的诱导效应及共轭效应, 化学位移大于 6.0 × 10<sup>-6</sup>。当芳环上取代基为吸电子基团如 F、Cl 时—CH<sub>2</sub>—上氢的化学位移值要高于取代基为给电子基团时的化学位移值。

#### 2.1.2 质谱与元素分析

为了确证化合物的分子结构, 对部分化合物做了 ESI 质谱分析主要质谱数据见表 2, 其中化合物 2a 做了气相—质谱(EI)连用分析。化合物 2a 的主要离子峰为 285, 256, 164, 136, 105, 77, 51。产物离子的相对丰度主要由它的稳定性决定, m/z 105 的丰度

表 2 标题化合物的 <sup>1</sup>H NMR, 部分 MS(ESI)数据

Tab. 2 <sup>1</sup>H NMR and partial MS(ESI) and GC-MS data of title compounds 2a~2c

化合物编号	<sup>1</sup> H NMR	MS(ESI, m/z, M <sup>+</sup> )	GC-MS
2a	6.15(s, 2H, CH <sub>2</sub> ), 7.27~7.87(m, 9H, Ar-H)		285,256,164, 136,105,77
2b	6.14(s, 2H, CH <sub>2</sub> ), 7.07~7.85(m, 8H, Ar-H)	303.3	
2c	1.27(m, 6H, 2CH <sub>3</sub> ), 6.10(s, 2H, CH <sub>2</sub> ), 7.07~7.79(m, 7H, Ar-H)	313.4	

表 3 标题化合物的元素分析数据

Tab. 3 Elementary analysis of title compounds 2a~2c

化合物编号	分子式	实测值(计算值)%		
		C	H	N
2a	C <sub>15</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>3</sub> S	62.87 (63.14)	3.46 (3.89)	4.88 (4.91)
2b	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> FNO <sub>3</sub> S	59.10 (59.40)	3.39 (3.32)	4.57 (4.62)
2c	C <sub>17</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>3</sub> S	64.96 (65.16)	4.45 (4.82)	4.41 (4.47)

最大, 说明  $C_6H_5-C\equiv O^+$  的稳定性最高。可能的裂解方式如图 2 所示。

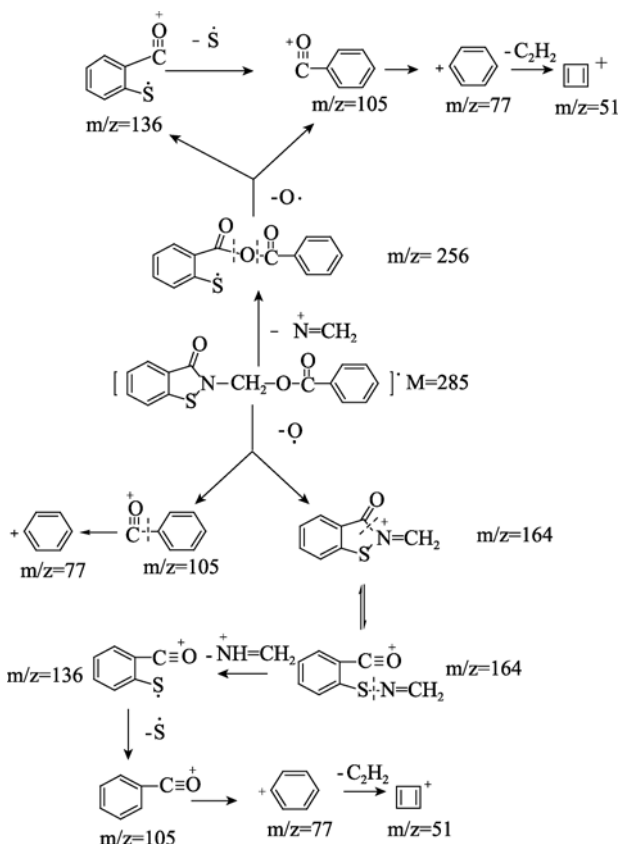


图 2 化合物 2a 的可能裂解方式

Fig. 2 The possible fragmentation pathway of 2a

元素分析数据列于表 3, 实测值与计算值之间的偏差在允许范围之内。

## 2.2 生物活性测试

化合物的相对抑菌率计算公式如下:

$$\text{相对抑菌率 (\%)} = \frac{\text{对照组菌落数} - \text{处理组菌落数}}{\text{对照组菌落数}} \times 100$$

药物浓度为  $10^{-6}$  g/L 时的相对抑菌率见表 4。测试结果表明所合成的化合物  $10^{-6}$  g/L 时对 5 种菌均有抑菌活性。其中普遍对大肠杆菌抑菌效果最高, 相对抑菌率均达 90% 以上, 其次是嗜水气单胞菌和溶藻弧菌, 所以此类化合物有望应用于海洋防污剂的开发。

从以上活性的分析可以看出, 化合物 2a ~ 2c 的活性大于或平衡与化合物 1, 目标化合物 2a ~ 2c 引入了  $O=C-C_6H_5$  基团, 苯环的引入, 增加了参与氢键的形成的氢的数量, 同时亲水基团的增加也使药物分子与受体形成氢键的能力增强, 有利于化合物

抑菌活性的增加。同时化合物的活性还与药物与受体作用的空间结构有关, 所以下一步我们将通过空间结构的分析进一步讨论。

表 4 抑菌活性数据

Tab. 4 Microbial inhibition activity data

菌种	化合物			
	1	2a	2b	2c
大肠杆菌	91.5	97.1	97.4	97.0
嗜水气单胞菌	89.2	88.4	89.4	91.8
溶藻弧菌	92.9	81.5	89.2	89.5
枯草芽孢杆菌	70.3	51.4	57.7	72.1
金黄色葡萄球菌	67.8	67.5	77.3	69

## 3 结论

(1) 本文以苯并异噻唑酮为原料合成了 3 种未见文献报道的苯并异噻唑酮化合物, 部分结构经  $^1H$  NMR、MS、元素分析确证。

(2) 通过对 5 种菌的初步生物活性测试表明化合物均有抑菌活性, 其中对大肠杆菌活性最高, 相对抑菌率均达 90% 以上, 有望开发为海洋防污剂。

参考文献:

- [1] Callow M E, Callow J A. Marine biofouling: a sticky problem[J]. *Biologist*, 2002, 49(1): 1-5.
- [2] Zani F, Vicini P, Incerti M. Synthesis and antimicrobial properties of 2-(benzylidene-amino)-benzo[d]isothiazol-3-ones[J]. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2004, 39: 135-140.
- [3] Morley J O, Oliver A J, Charlton M H. Theoretical studies on the biocidal activity of 5-chloro-3-isothiazolone[J]. *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM*, 1998, 429(1): 103-110.
- [4] Jacobson A H, Willingham G L. Sea-nine antifoulant: an environmentally acceptable alternative to organotin antifoulants[J]. *The Science of the Total Environment*, 2000, 258(1): 103-110.
- [5] Steen R J C A, Ariese F, Hattum B, et al. Monitoring and evaluation of the environmental dissipation of the marine antifoulant 4,5-dichloro-2-n-octyl-4-isothiazolin-3-one (DCOIT) in a Danish Harbor[J]. *Chemosphere*, 2004, 57(6): 513-521.
- [6] Ryo O, Hideki N, Kozo K, et al. Synthesis and Antibacterial Activity of 2, 2'-Dith-iobis (benzamide) Derivatives against Mycobacterium Species[J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 1985, 28: 1772-1779.

(下转第 76 页)

# Synthesis and bioactivity of 3-carbonyl-benzo[d]isothiazol-3(2H)-methyl Benzoates Derivatives

XU Feng-ling<sup>1</sup>, LIN Cun-guo<sup>1</sup>, LIU Xiu-li<sup>2</sup>, XU Wei<sup>3</sup>

(1. Key Laboratory for Marine Corrosion and Protection, Science and Technology for National Defense; Qingdao Branch of Luoyang Ship Material Research Institute, Qingdao 266071, China; 2. Qingdao Petro China Kunlun Natural Gas Utilization Company Limited, Qingdao 266071, China; 3. The Administrative Committee of Qingdao Free Trade Port Zone, Qingdao 266071, China)

**Received:** Mar., 23, 2010

**Key words:** antifoulant; benzisothiazolone; synthesize; bioactivity

**Abstract:** Novel antifoulants were synthesized and their structures were confirmed by means of MS, elemental analysis, and <sup>1</sup>H NMR. The antimicrobial activity of the compounds on five bacteria, including *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio alginolyticus*, *Aeromonas hydrophila*, and *Bacillus subtilis* were tested. These compounds showed good antimicrobial activity, especially to *Escherichia coli*. When the compounds concentration were reached 10<sup>-6</sup> g/L the viable cell were reduced by more than 90%. The novel synthesized compounds might be potential microbial inhibitors.

(本文编辑:康亦兼)