

苯酰胺类化合物防污活性基团的初步探索

荀靖懿^{1,2}, 郑纪勇², 程旭东¹, 马力², 张宏泉¹, 蔺存国²

(1. 武汉理工大学 材料科学与工程学院, 湖北 武汉 430070; 2. 中国船舶重工集团公司第七二五研究所 海洋腐蚀与防护重点实验室, 山东 青岛 266237)

摘要: 开发绿色环保防污剂是海洋船舶防污涂料研究的重要方向, 查明防污活性化合物分子结构中的防污活性基团, 是设计开发新型防污剂的关键。本文合成了 3 种结构相似的苯酰胺类化合物 HNOB、DOLPA 和 DHNOB, 通过 FTIR, ¹H NMR, ¹³C NMR 测试表征 3 种化合物的分子结构, 利用典型污损生物硅藻和贻贝作为目标生物, 测试其对硅藻和贻贝附着的影响, 并将分子结构与防污活性进行对比, 初步探讨影响防污性能的活性基团。硅藻和贻贝附着实验均表明, HNOB 的防污性能较好, 半数抑制浓度远低于 DOLPA 和 DHNOB。通过结构对比分析发现, 极性和非极性结构的协同作用比单一的极性基团或非极性长碳链基团能更好地赋予苯酰胺类物质良好的防污性能。该研究初步探讨了苯酰胺类化合物的构效关系, 有助于新型防污活性化合物的设计开发和结构优化, 并对探究该类化合物防除污损生物附着的机理和快速筛选有潜力的防污化合物具有重要意义。

关键词: 苯酰胺类化合物; 硅藻附着; 防污; 构效关系

中图分类号: X55 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2022)05-0104-11
DOI: 10.11759/hyxx20211224001

海洋生物污损对海洋工程、管道设备、船舶等造成很大危害^[1]。对船舶而言, 生物污损会增加船舶航行阻力, 加快燃料消耗, 降低船舶航速, 还会破坏设施的表面涂层, 加速金属腐蚀^[2]。为了解决海洋污损问题, 人类开发多种防污损方法, 比如机械清除法、低表面能涂料防污法、超声波防污法、化学防污法及生物防污法。其中化学防污法是目前使用最广泛的方法之一, 防污剂是其发挥作用的关键成分。传统的化学防污法通常使用有毒的化学物质如 TBT、砷、汞化合物、氧化亚铜等^[3], 对海洋环境造成严重危害。基于 TBT 的防污涂料高效且稳定, 但对环境影响巨大, 已于 2008 年被禁用。而无锡自抛光涂料也因为重金属积累的问题饱受诟病。因此, 越来越多的研究人员开始研制绿色长效的新型防污剂^[4-8]。

目前新型防污剂主要来自天然提取物的筛选^[9-10]和人工合成化合物的改性。天然提取物主要是从海陆微生物和动植物体内分离提取的具备防污活性的次级代谢产物^[11-13], 该类产品添加剂在海洋环境中易于降解, 可保持生态平衡。在所有来源类别中, 微生物是主要的来源, 超过一半的防污化合物从海洋微生物中分离出来, 包括真菌和细菌。此外, 22%的防污化合

物从藻类中鉴定出来, 而 23%从包括珊瑚和海绵在内的海洋无脊椎动物中分离出来^[14-15]。海洋天然产品虽然被认为是无毒杀菌剂或金属基防污涂料的替代品, 但其供应问题限制了它们在海洋涂料行业的商业应用, 因此研究人员通过人工合成的方法来制备经济高效的新型防污剂^[16-17]。在合成中, 防污活性基团的保留是合成高效防污剂的关键。

本文以先期研究从天然产物中获得的苯酰胺类化合物为模型, 探究分子结构中的防污活性基团及其对污损生物附着的影响, 设计并合成出非对称的苯酰胺化合物 HNOB(2-hydroxy-N-octylbenzamide)、含有长碳链对称结构的化合物 DOLPA(N1, N3-dioctylisophthalamide)和含有苯酚对称结构的化合物 DHNOB [N, N'-(octane-1, 8-diyl)bis(2-hydroxybenzamide)], 利用室内硅藻附着实验和贻贝实验初步测试 3 种物质的防污活性, 结合分子结构对比, 来推测可能的防

收稿日期: 2021-12-24; 修回日期: 2022-01-25

基金项目: 国家自然科学基金(U2141251)

[Foundation: National Natural Science Foundation of China, No. U2141251]

作者简介: 荀靖懿(1993—), 男, 江苏淮安人, 硕士研究生, 研究方向为船舶防污涂层, E-mail: xunjy@outlook.com; 张宏泉(1966—), 通信作者, 教授, E-mail: zhhquan@whut.edu.cn; 蔺存国(1973—), 通信作者, 研究员, E-mail: lincg@sunrui.net

污活性基团结构。这项工作有助于新型防污活性化合物的设计开发和结构优化, 并对探讨该类化合物防除污损生物附着机理、快速筛选有潜力的防污化合物具有重要意义。

1 实验

1.1 样品和试剂

1-氨基辛烷, 1-8-二氨基辛烷, 水杨酸甲酯和间

苯二甲酸二甲酯均购自于麦克林, AR 级试剂; 碳酸钠, 无水硫酸钠, 正己烷, 乙醇, 丙酮, 二甲基亚砜和二氯甲烷均购自于上海沪试, AR 级试剂; F/2 Medium 购自于上海光语生物科技; Econeal 购自北京偶合科技, 纯度 95%。

1.2 HNOB、DHNOB、DOLPA 的合成

本文采用胺酯的交换^[18-20]反应来合成酰胺^[21-22], 3 种苯酰胺类化合物合成路线如图 1 所示。

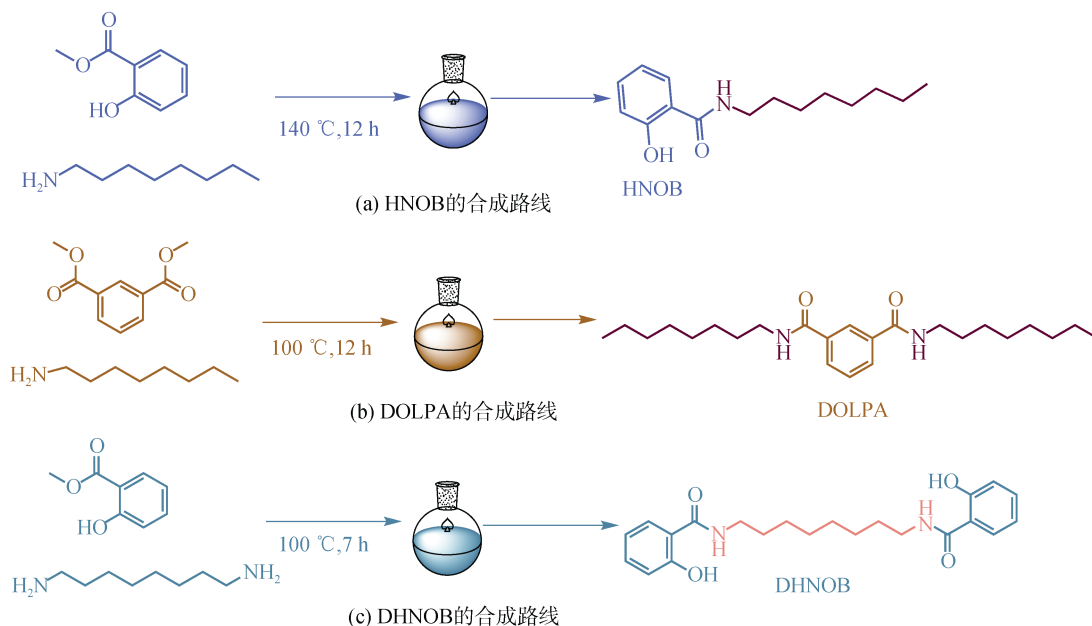


图 1 三种化合物的合成路线: (a) HNOB、(b) DOLPA 和(c) DHNOB

Fig. 1 Synthesis route of three compounds: (a) HNOB, (b) DOLPA, and (c) DHNOB

1.2.1 HNOB 的合成

HNOB 通过 1-氨基辛烷和水杨酸甲酯进行酯交换反应得到(图 1a)。在 100 mL 三口烧瓶中依次加入 50 mmol 水杨酸甲酯, 55 mmol 辛胺, 并以 500 r/min 的转速搅拌, 加热至 140 °C 时, 反应开始计时, 反应 12 h。反应结束后, 停止加热, 冷却出料。加入二氯甲烷溶解产物, 将反应液置于分液漏斗中, 加入 50 mL 的 5% 盐酸水溶液, 震荡静置后分液, 得到下层液, 再加入适量 10% Na₂CO₃ 水溶液洗涤至中性, 静置分层得到下层液, 重复 3 次上述步骤。取有机相, 加入 5 g 无水硫酸钠干燥剂过夜干燥, 过滤。对滤液进行旋蒸, 除去二氯甲烷, 最后得到淡粉色固体。

1.2.2 DOLPA 的合成

DOLPA 通过间苯二甲酸二甲酯和 1-氨基辛烷进行酯交换反应得到(图 1b)。在氮气氛围下, 将 2.91 g (15 mmol) 间苯二甲酸二甲酯和 3.89 g (30 mmol) 1-

氨基辛烷加入到带有冷凝器的圆底烧瓶中, 混合物在 100 °C 下搅拌 12 h, 得到粗产物。所得产物用适量丙酮溶解, 用布氏漏斗进行抽滤, 再用丙酮冲洗过滤物, 按上述步骤洗涤 3 次。用正己烷/乙醇进行重结晶, 最后结晶物在 60 °C 下真空干燥 24 h, 得到白色结晶物 DOLPA。

1.2.3 DHNOB 的合成

DHNOB 通过 1-8-二氨基辛烷和水杨酸甲酯进行酯交换反应得到(图 1c)。在氮气氛围下, 将 1.4 g (10 mmol) 1-8-二氨基辛烷和 3.80 g (25 mmol) 水杨酸甲酯加入到带有冷凝器的圆底烧瓶中, 混合物在 100 °C 下搅拌 7 h, 得到粗产物。所得产物用适量二氯甲烷溶解, 布氏漏斗进行抽滤, 再用二氯甲烷冲洗过滤物, 按上述步骤洗涤 3 次。用正己烷/乙醇进行重结晶, 最后过滤物在 60 °C 下真空干燥 24 h, 得到白色粉末固体 DHNOB。

2 材料测试与表征

2.1 傅里叶红外分析

用 Nicolet 8700 型红外吸收光谱仪对样品进行结构表征,测其在 $400\sim 4\,000\text{ cm}^{-1}$ 范围内的吸收峰,得到红外吸收光谱图。

2.2 核磁共振分析

核磁共振谱图采用 Bruker Avance NEO 600 测试。HNOB、DOLPA 和 DHNOB 样品测试分别使用二氯甲

烷、甲醇和二甲基亚砷代溶剂溶解。化学位移(δ)是相对于三甲基硅烷(TMS)的百万分之一(ppm)。

2.3 硅藻附着实验

硅藻是导致生物污损的关键污损生物,其在固相表面的附着可诱导大型污损生物附着,同时附着的硅藻生物膜异常顽固,能够广泛适应各种性质的表面^[23]。因此,抑制硅藻的附着是防除污损生物的重要思路之一。室内硅藻附着实验可用于表征化合物的防污性能(图 2)。

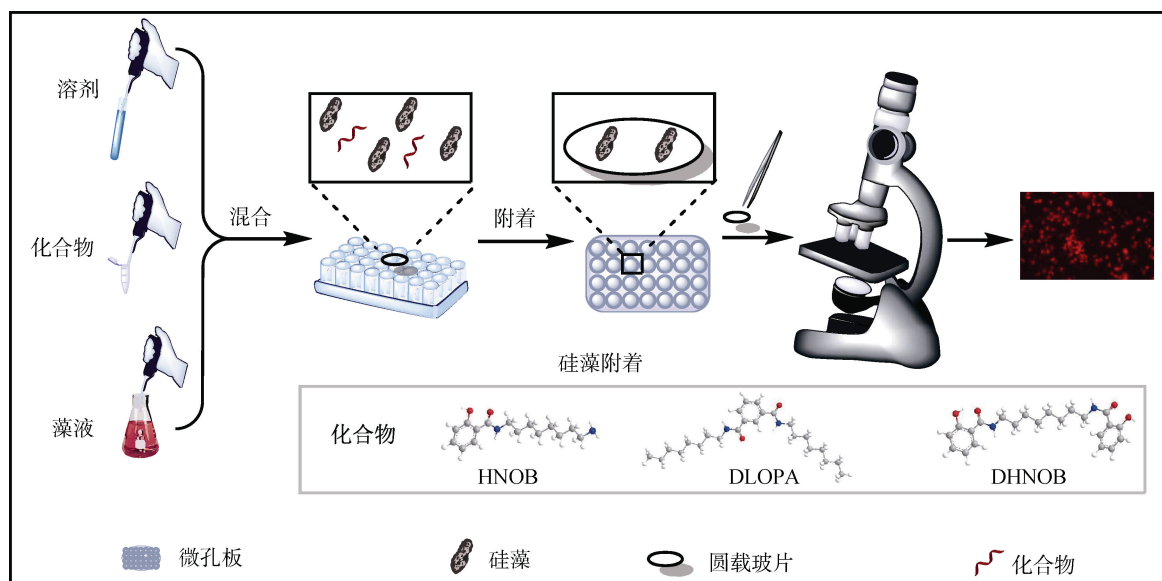


图 2 室内硅藻附着实验示意图

Fig. 2 Schematic of the indoor diatom attachment experiment

按照 Guillard & Ryther 方法配置含硅 F/2 培养液用于培养小形舟形藻(*Navicula parva*)和中肋骨条藻(*Skeletonema costatum*)。本实验设计 6 个梯度浓度,分别为 $6.5\ \mu\text{g/mL}$ 、 $12.5\ \mu\text{g/mL}$ 、 $25\ \mu\text{g/mL}$ 、 $50\ \mu\text{g/mL}$ 、 $100\ \mu\text{g/mL}$ 和 $200\ \mu\text{g/mL}$,考察 3 种化合物在不同浓度下对硅藻附着抑制效果。此外每组增设阴性对照组和空白对照组,化合物浓度为 $0\ \mu\text{g/mL}$ 且含 5% 体积溶剂的为阴性组,化合物浓度为 $0\ \mu\text{g/mL}$ 且无溶剂的为空白组。 $6.5\ \mu\text{g/mL}$ 组按下述步骤实施:预先刻制好圆载玻片,培养浓度约为 1×10^6 个/mL 的小形舟形藻或中肋骨条藻藻液以及浓度为 $6.5\ \mu\text{g}/\mu\text{L}$ 的 HNOB 溶液(HNOB 使用二甲基亚砷溶解,DOLPA 和 DHNOB 使用乙醇溶解)。在 24 微孔板中依次加入圆载玻片、 $1\,900\ \mu\text{L}$ 小形舟形藻或中肋骨条藻藻液, $13\ \mu\text{L}$ HNOB 溶液和 $87\ \mu\text{L}$ 二甲基亚砷溶剂,混合均匀。其他组依此类推。最后将微孔板放

置于人工气候箱中, $23\ ^\circ\text{C}$ 恒温培养。每组设置 3 个平行样。72 h 后用灭菌海水轻轻冲洗圆载玻片上未附着硅藻,用 LEICA DM2500 荧光显微镜在 20 倍物镜下观察圆载玻片上硅藻附着情况,并随机选取 5 个视野在 $360\ \text{nm}$ 波长下拍摄荧光照片,视野面积为 $0.1975\ \text{mm}^2$,使用 Image pro 图像识别处理软件对照片中硅藻个数进行计数。 S_Y 为阴性组硅藻附着数量, S_T 为测试组硅藻附着数量。硅藻附着抑制率 Y 按下述公式计算:

$$Y = \frac{(S_Y - S_T)}{S_Y} \times 100\% . \quad (1)$$

使用 GraphPad Prism 9 软件中的 Dose-Response 模型将抑制率与对数浓度拟合曲线^[24],根据函数 $Y = \frac{100}{1 + 10^{\lg(\text{EC}_{50} - x) \times \text{Hill Slope}}}$ 计算出半数抑制浓度(EC_{50}),式中 Hill Slope 描述了曲线的陡度。

2.4 贻贝实验

贻贝足丝腺可分泌足丝，足丝末端含有万能胶水之称的“贻贝粘着蛋白”，可锚固在大部分硬质表面，这使得贻贝成为船体上常见的污损生物，群集数目高达 1 000 个/m²。贻贝实验主要考察化合物对贻贝足丝的抑制效果。实验步骤如下：向 6 孔细胞培养板中加入 9 950 μL 天然海水和 50 μL 浓度为 1 μg/μL 的化合物溶液，配制成 5 μg/mL 的混合液。同时设置空白组，阴性组(该组中使用乙醇溶剂为阴性组 1，使用二甲基亚砜溶剂为阴性组 2)和阳性组(Ecnea)。向

细胞培养板中加入贻贝，24 h 后观察贻贝活性和分泌的足丝个数，记为实验组 1。观察后将实验组 1 中的贻贝取出并放入正常海水中继续培养 24 h，再次观察其活性和足丝个数，该组记为实验组 2。

3 结果与分析

3.1 苯酰胺类化合物分子结构表征

对合成的 3 种苯酰胺类化合物进行红外光谱、核磁氢谱和核磁碳谱的测试，结果分别如图 3、图 4 和图 5 所示：

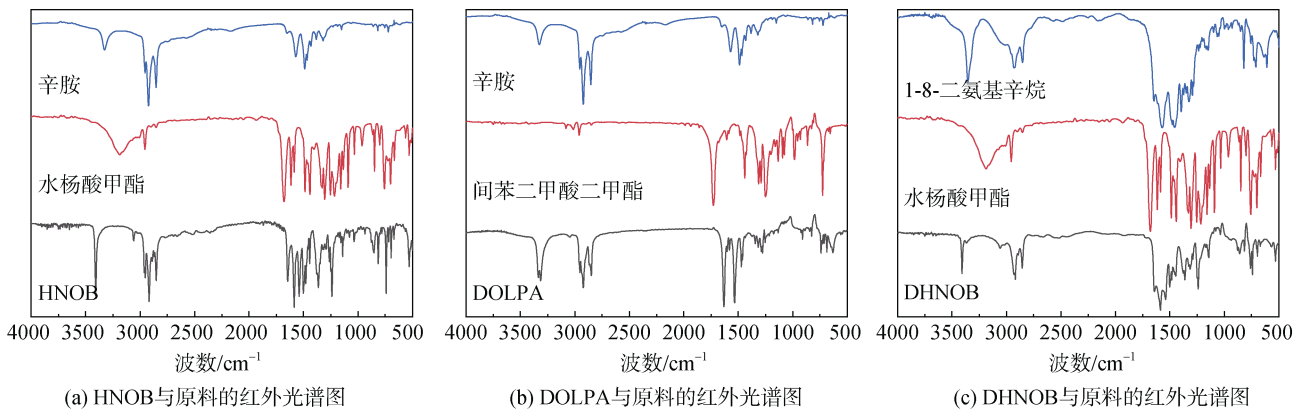


图 3 三种苯酰胺类化合物及其原料的红外光谱表征

Fig. 3 Chemical characterization of the three compounds and their raw materials via FTIR

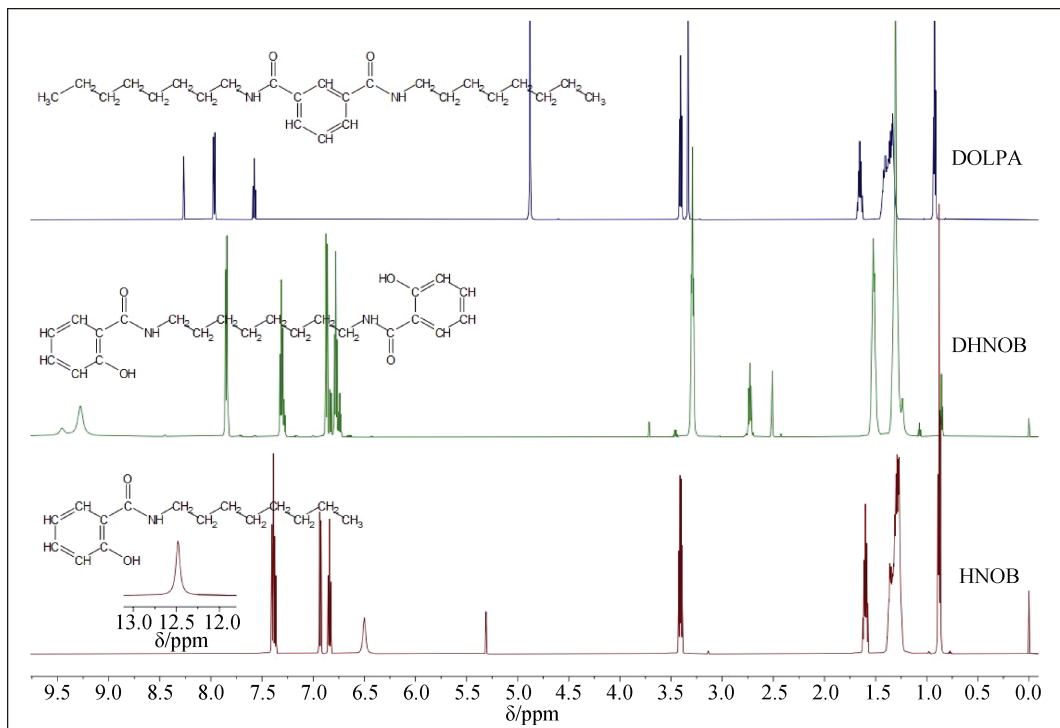


图 4 三种苯酰胺类化合物的核磁氢谱表征

Fig. 4 Chemical characterization of the three compounds via ¹H NMR

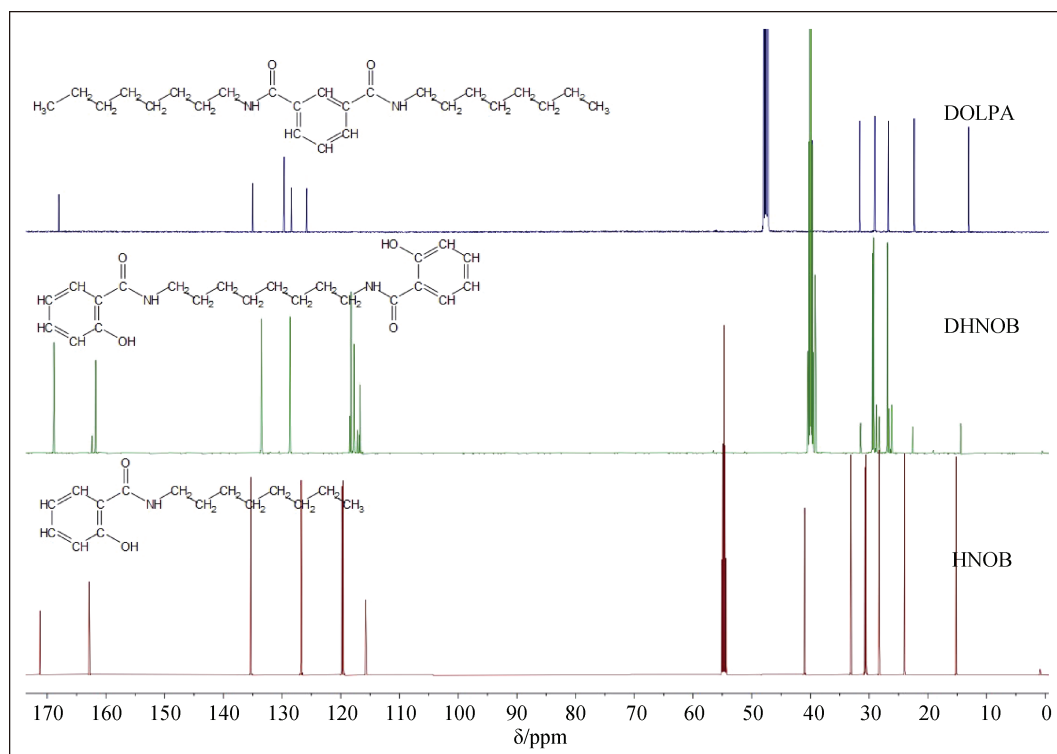


图 5 三种苯酰胺类化合物的核磁碳谱表征

Fig. 5 Chemical characterization of the three compounds via ^{13}C NMR

在 HNOB 红外谱图(图 3a)中, 3407 cm^{-1} 单峰为酰胺 N-H 伸缩振动峰, 1644 cm^{-1} 和 1540 cm^{-1} 分别为羰基伸缩振动(酰胺 I 带)和 N-H 弯曲振动(酰胺 II 带), 另外 HNOB 没有出现羰基峰, 这表明合成初步成功。结合图 4 中 ^1H NMR 分析: $\delta 0.89$ 为长碳链末端- CH_3 信号, 其峰面积为 3。 $\delta 1.22\sim\delta 1.41$, $\delta 1.65$, $\delta 3.45$ 为长碳链上亚甲基- CH_2 -信号, 峰总面积约为 14, 与亚甲基上 H 个数一致。 $\delta 6.53\sim\delta 7.43$ 为苯环及酰胺上 H 吸收峰。 $\delta 12.51$ 为酚羟基吸收峰。通过图 5 的 ^{13}C NMR 证实分子结构中碳的个数与目标产物一致。

结合 DOLPA 和间苯二甲酸二甲酯红外谱图(图 3b)看, 在 1715 cm^{-1} 处酯键 $\text{C}=\text{O}$ 振动峰消失, 能够初步说明 DOLPA 成功合成。通过 ^1H NMR 确定 DOLPA 化学结构, 如图 4 所示, $\delta 8.24$, $\delta 7.94$, $\delta 7.55$ 归属于苯环上- $\text{C}-\text{H}$ 信号, 3 个信号峰面积比约为 1:2:1。 $\delta 1.30\sim\delta 1.63$ 则为长链上- CH_2 -信号。 $\delta 0.90$ 为长链上末端甲基- CH_3 信号, 其峰面积约为 6。同时通过图 5 中 ^{13}C NMR 证实 DOLPA 结构中碳的个数与目标产物一致。

综合水杨酸甲酯和 DHNOB 红外谱图(图 3c)看, 酯基吸收振动峰消失, 酰胺 I 带和酰胺 II 带的生成,

能够初步表明 DHNOB 合成成功。通过 ^1H NMR 确定 DHNOB 的化学结构, 如图 4 所示, $\delta 7.80$ 的信号属于- NH , $\delta 6.72\sim\delta 7.27$ 归属于苯环上- $\text{C}-\text{H}$ 信号, 峰面积比约为 1:1:1:1。 $\delta 1.50$ 和 $\delta 1.32$ 为长链- CH_2 -信号。这些数据表明成功合成 DHNOB。同时通过 ^{13}C NMR 确定 DHNOB 化学结构(图 5): 167 ppm 为羰基 C 信号, 162 ppm 为连接酚羟基 C 信号, 118 ppm 、 132 ppm 、 116 ppm 、 115 ppm 、 128 ppm 分别为苯环位置上的碳信号。 38 ppm 、 28 ppm 、 26 ppm 、 29 ppm 则为长碳链上碳信号。

3.2 硅藻附着实验

对合成的化合物 HNOB, DOLPA 和 DHNOB 进行硅藻附着实验, 使用 LEICA 荧光显微镜对圆载玻片进行拍照, 用 Image pro 软件对荧光照片上的红点进行计数, 并测出其对于典型污损生物的半抑制浓度。拟合曲线如图 6 所示:

根据抑制率 Y 与对数浓度 $\lg C$ 的关系拟合出如图 6a 和图 6b 的图像, 表 1 给出拟合后的相关系数 R^2 、Hill Slope 和 EC_{50} 。从表 1 的 EC_{50} 看出, 化合物对两种硅藻都具有一定的抑制, 并且 $\text{EC}_{50}(\text{HNOB}) < \text{EC}_{50}(\text{DOLPA}) \approx \text{EC}_{50}(\text{DHNOB})$ 。

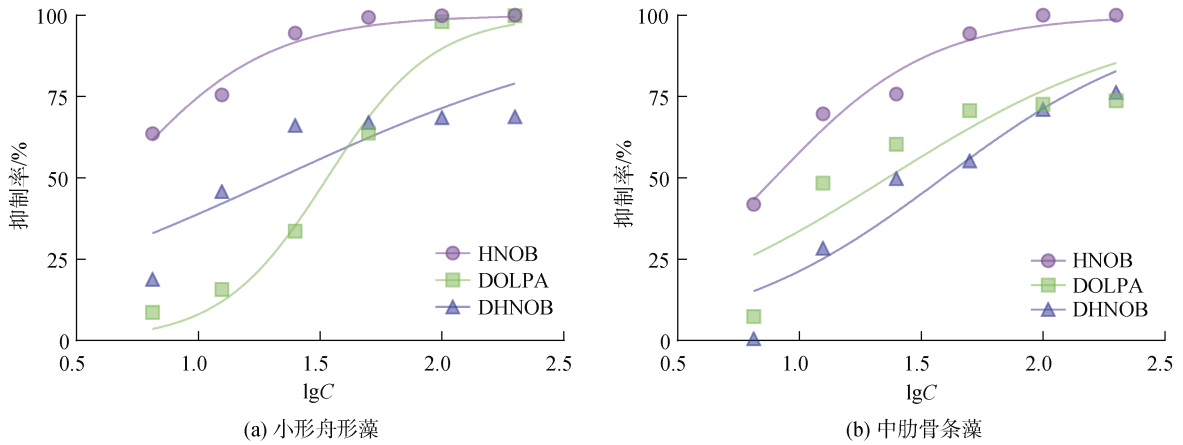


图 6 硅藻抑制率与 $\lg C$ 的拟合曲线

Fig. 6 Fitting curve of the inhibition rate with $\lg C$

表 1 拟合函数的相关数值 R^2 , Hill Slope 和 EC_{50}
 Tab. 1 Correlation values of the fitting function R^2 , Hill Slope, and EC_{50}

硅藻	化合物	Hill Slope	R^2	$EC_{50}/(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$
小形舟形藻	HNOB	3.594	0.872 7	4.661
	DOLPA	7.372	0.902 6	33.87
	DHNOB	2.062	0.579 6	21.39
中肋骨条藻	HNOB	3.681	0.950 0	7.927
	DOLPA	2.734	0.683 0	22.99
	DHNOB	3.304	0.890 0	38.91

如图 7a 和图 8 所示, 3 种化合物对小形舟形藻均有明显的抑制作用, 其中 HNOB 对小形舟形藻的抑制效果最明显, 半数抑制浓度 EC_{50} 为 $4.661 \mu\text{g}/\text{mL}$ 。HNOB 和 DOLPA 的浓度在 $200 \mu\text{g}/\text{mL}$ 时, 对硅藻具有强烈的灭杀效果, 但 HNOB 在低浓度时具有比 DOLPA 更好的抑制效果, $6.5 \mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度作用下, 视野中小形舟形藻的附着个数为 177。DHNOB 也具有一定抑制作用, 但是在浓度达到 $50 \mu\text{g}/\text{mL}$ 后, 提高浓度对硅藻的抑制作用不明显, 小形舟形藻的附着个数均在 70 左右。

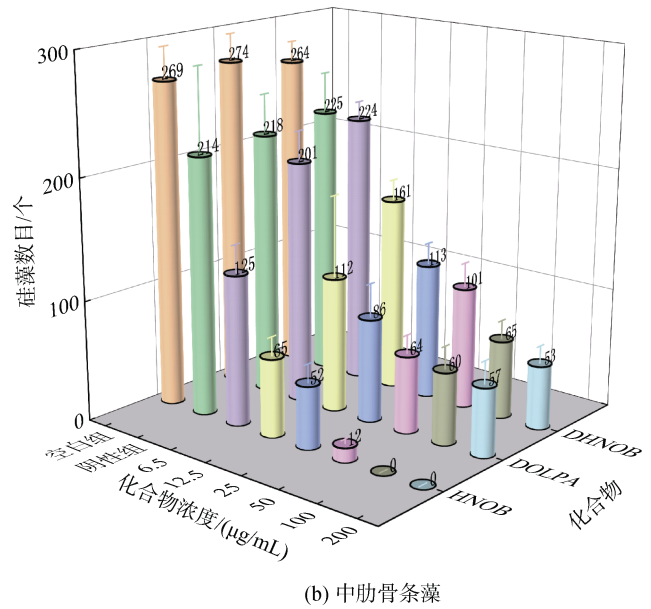
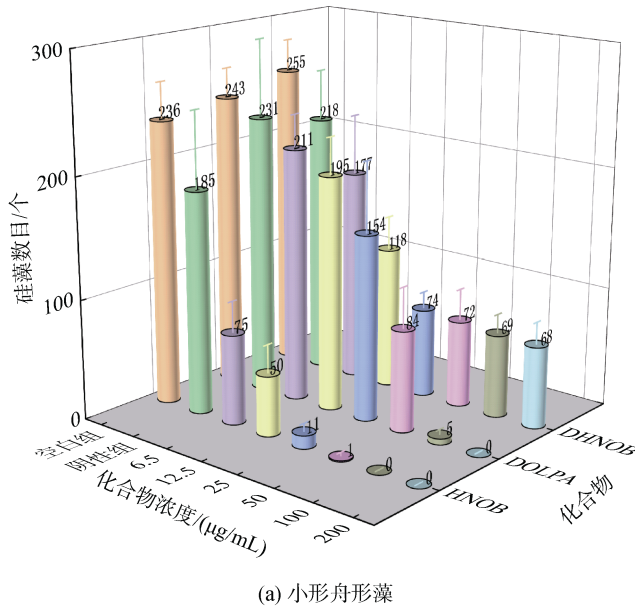


图 7 不同化合物浓度作用下, 20 倍视野中硅藻附着个数

Fig. 7 Number of diatoms attached in the $20\times$ field under different compound concentrations

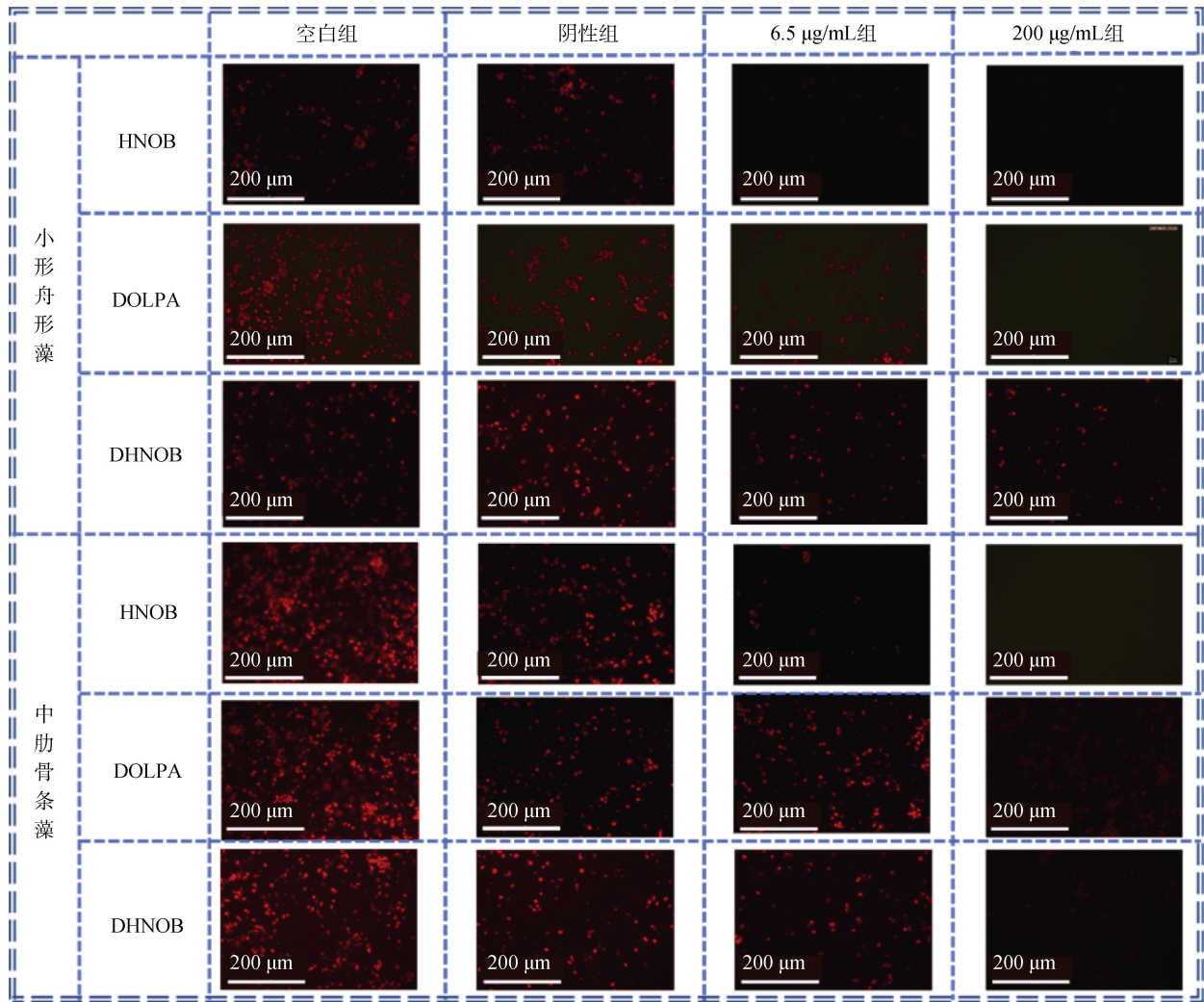


图 8 硅藻在不同浓度化合物作用下 72 h 后的荧光照片

Fig. 8 Fluorescence images of diatoms exposed to different concentrations of compounds for 72 h

从图 7b 和图 8 可以看出 3 种化合物对中肋骨条藻抑制规律和小形舟形藻相似, 不同之处在于高浓度时 DOLPA 对中肋骨条藻抑制作用不明显。

苯酰胺类化合物结构类似于表面活性剂的结构^[25]。结合表面活性剂的生物效应^[26], 我们认为苯酰胺类化合物可能吸附于带负电荷的微生物表面, 并逐步渗入类脂层^[25], 从而改变细胞膜通透性, 使细胞内容物外渗, 导致微生物死亡, 推测机理如图 9a 所示。另外结合药物设计中的药效团模型^[27-28], 认为化合物有可能在通过磷脂双分子层后, 与细胞器上的糖蛋白或者其他类型的蛋白进行结合并对该蛋白的正常功能起到抑制作用, 最终导致微生物失去活性^[27], 推测机理如图 9b 所示。

结合 3 种化合物结构看, DHNOB 由于结构中疏水性烷基结构^[29]被两端的酚结构所屏蔽, 从而使化

合物不易穿透生物膜进入细胞体内进行作用。同时氢键供体酚羟基和氢键受体酰胺结构依然能与部分蛋白结合而起到抑制作用, 但是作用程度有限, 所以具有对称酚类结构的化合物对硅藻附着的抑制效果一般。仅具有长碳链结构的化合物(DOLPA)对硅藻附着的抑制效果不佳, 对 2 种硅藻的半抑制浓度均大于 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。分析认为与结构的极性大小有关, 极性小不易吸附在微生物膜表面。另外还与化合物长碳链的构象有关, 蜷曲的构象不易穿透生物膜, 反之伸展开的构象容易穿透生物膜。HNOB 化合物具有静电作用的酚羟基和酰胺结构, 可以像表面活性剂一样先吸附于细胞膜等表面, 再通过疏水性烷基结构渗入类脂层, 破坏细胞正常的结构, 最终导致微生物死亡。所以 HNOB 在实验中表现出较好的防污活性。

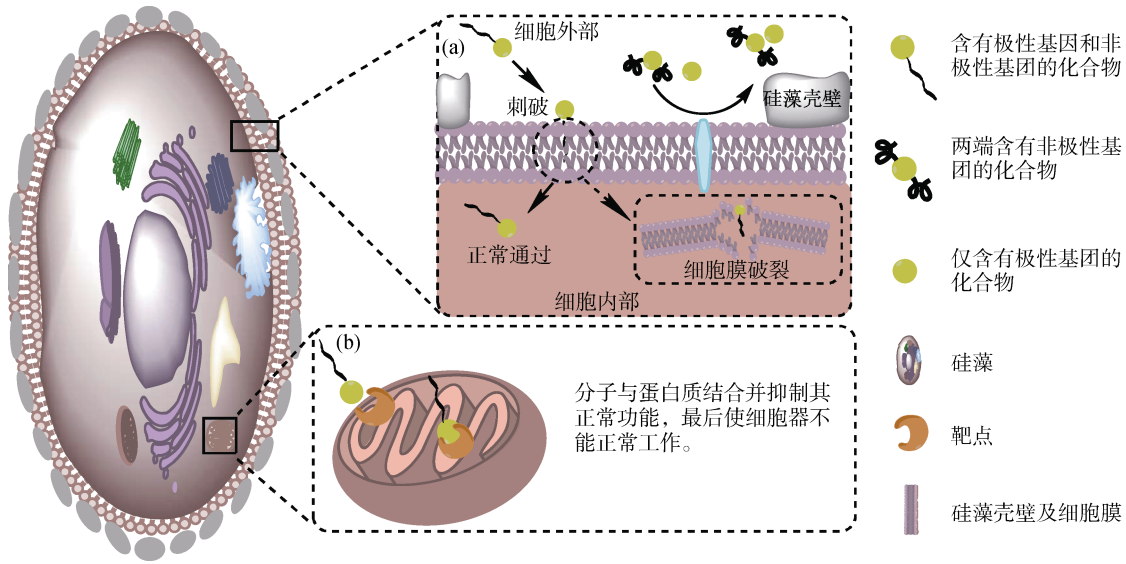


图 9 化合物抑制硅藻活性的机理示意图

Fig. 9 Mechanism diagram of the compound inhibiting the diatom activity

注: (a)类似于表面活性剂的生物效应机理; (b)化合物与细胞器结合并抑制硅藻正常功能

3.3 贻贝实验

通过贻贝足丝个数和存活状态来判断化合物对大型污损生物的抑制和毒杀作用。3种苯酰胺类化合物对贻贝足丝和活性的影响结果如表2所示。

对照组中可以看出,阳性组均杀死了贻贝,空白组和阴性组贻贝均存活且有足丝生成。实验组1中HNOB的3组平行样在24h后没有足丝生成,可以判断其对贻贝足丝具有抑制作用。同时3个平行样的贻贝均存活,初步表明HNOB对贻贝没有毒杀作用。DOLPA组贻贝均存活且生成足丝,每组贻贝平均生成12根足丝,对贻贝足丝的抑制效果不明

显。DHNOB样中2#平行样贻贝死亡,其他两组贻贝均存活且有足丝生成。从实验组2看出,HNOB的3#贻贝存活且生出4根足丝,1#贻贝死亡。结合实验组1的情况看,贻贝在有HNOB的海水中不会分泌足丝,24h后将其放入正常海水中后又分泌足丝,表明HNOB对贻贝足丝具有抑制效果,且对贻贝的毒杀作用较低,符合绿色防污剂的设计要求。DOLPA和DHNOB两组均存活,但DOLPA组贻贝分泌的足丝个数要少于DHNOB组。长期来看,DOLPA对贻贝的抑制作用比DHNOB好,但远低于HNOB防污效果。

表2 3种苯酰胺类化合物对贻贝足丝及活性的影响

Tab. 2 Effects of the three benzamide compounds on mussel byssus and activity

组别	1		2		3		
	足丝个数	存活状态	足丝个数	存活状态	足丝个数	存活状态	
对照组	空白组	13	√	10	√	15	√
	阴性组 1	11	√	9	√	7	√
	阴性组 2	8	√	17	√	10	√
	阳性组	0	×	0	×	0	×
实验组 1	HNOB	0	√	0	√	0	√
	DOLPA	10	√	11	√	15	√
	DHNOB	11	√	0	√	10	√
实验组 2	HNOB	0	×	-	-	4	√
	DOLPA	3	√	-	-	5	√
	DHNOB	12	√	-	-	15	√

注: √ 表示存活状态, × 表示死亡状态, - 表示没有实施该组实验。

4 结论

在这项工作中, 我们通过酯交换反应合成 HNOB, DOLPA 和 DHNOB 3 种化合物, 对其进行 FTIR, ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 表征与分析, 并通过室内硅藻附着和贻贝实验对化合物防污性能进行测试, 根据实验结果与化合物结构对比分析, 得到如下结论:

(1) ^1H NMR、 ^{13}C NMR 和 FTIR 表明成功合成 3 种目标化合物, 其中 DOLPA 两端具有 8 个碳的脂肪链结构, DHNOB 两端具有亲水性的酚羟基和能形成氢键的酰胺结构, 而 HNOB 既有酚酰胺的结构又有 8 个碳的脂肪链结构。

(2) 硅藻附着和贻贝实验均表明 HNOB 防污性能好于 DOLPA 和 DHNOB。根据 DoE-Response 模型拟合出曲线并计算得到 EC_{50} , $\text{HNOB} < \text{DOLPA} \approx \text{DHNOB}$ 。结果表明极性和非极性结构的协同作用比单一的极性基团或非极性长碳链基团能更好地赋予苯酰胺类物质良好的防污性能。另外 HNOB 对贻贝毒杀作用较小, 更符合绿色防污剂的设计要求。

参考文献:

- [1] QI S H, ZHANG S, YANG L H, et al. Antifouling and antibacterial compounds from the gorgonians *Subergorgia suberosa* and *Scripearia gracillis*[J]. *Natural Product Research*, 2008, 22(2): 154-166.
- [2] 郑纪勇. 海洋生物污损与材料腐蚀[J]. *中国腐蚀与防护学报*, 2010, 30(2): 171-176.
ZHENG Jiyong. Influence of marine biofouling on corrosion behavior[J]. *Journal of Chinese Society for Corrosion and Protection*, 2010, 30(2): 171-176.
- [3] HU J Y, ZHEN H J, WAN Y, et al. Trophic magnification of triphenyltin in a marine food web of Bohai bay, north China: comparison to tributyltin[J]. *Environmental Science & Technology*, 2006, 40(10): 3142-3147.
- [4] PEREIRA F, ALMEIDA J R, PAULINO M, et al. Antifouling napyradiomycins from marine-derived actinomycetes *streptomyces aculeolatus*[J]. *Marine Drugs*, 2020, 18(1): 63.
- [5] PLOUGUERNÉ E, DE SOUZA L M, SASSAKI G L, et al. Glycoglycerolipids from *sargassum vulgare* as potential antifouling agents[J]. *Frontiers in Marine Science*, 2020, 7: 116.
- [6] LIU L L, WU C H, QIAN P Y. Marine natural products as antifouling molecules - a mini-review (2014-2020)[J]. *Biofouling*, 2020, 36(10): 1210-1226.
- [7] QIAN P Y, XU Y, FUSEYANI N. Natural products as antifouling compounds: recent progress and future perspectives[J]. *Biofouling*, 2010, 26(2): 223-234.
- [8] XU Y, HE H B, SCHULZ S, et al. Potent antifouling compounds produced by marine *Streptomyces*[J]. *Bioresource Technology*, 2010, 101(4): 1331-1336.
- [9] QIN G F, LIANG H B, LIU W X, et al. Bicyclo [6.3.0] undecane sesquiterpenoids: structures, biological activities, and syntheses[J]. *Molecules*, 2019, 24(21): 3912.
- [10] YANG L H, MIAO L, LEE O O, et al. Effect of culture conditions on antifouling compound production of a sponge-associated fungus[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2007, 74(6): 1221-1231.
- [11] HENTSCHEL U, SCHMID M, WAGNER M, et al. Isolation and phylogenetic analysis of bacteria with antimicrobial activities from the Mediterranean sponges *Aplysina aerophoba* and *Aplysina cavernicola*[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2001, 35(3): 305-312.
- [12] CLARE A S. Marine natural product antifoulants: status and potential[J]. *Biofouling*, 1996, 9(3): 211-229.
- [13] SATHEESH S, BA-AKDAH M A, AL-SOFYANI A A. Natural antifouling compound production by microbes associated with marine microorganisms — a review[J]. *Electronic Journal of Biotechnology*, 2016, 21: 26-35.
- [14] KAMYAB E, GOEBELER N, KELLERMANN M Y, et al. Anti-fouling effects of saponin-containing crude extracts from tropical indo-pacific sea cucumbers[J]. *Marine Drugs*, 2020, 18(4): 181.
- [15] 吴珊, 俞思羽, 姜薇, 等. 一株海绵附生芽孢杆菌的抗硅藻附着活性成分的分离鉴定[J]. *海洋科学*, 2016, 40(7): 23-32.
WU Shan, YU Siyu, JIANG Wei, et al. Isolation and identification of active compounds inhibiting diatom settlements using sponge-associated *Bacillus* sp.[J]. *Marine Sciences*, 2016, 40(7): 23-32.
- [16] KHAN M, WANG B W, CHEN Y Y, et al. Natural polyketide 6-pentyl-2H-pyrone-2-one and its synthetic analogues efficiently prevent marine biofouling[J]. *Biofouling*, 2021, 37(3): 257-266.
- [17] LABRIERE C, ELUMALAI V, STAFFANSSON J, et al. Phidianidine A and synthetic analogues as naturally inspired marine antifoulants[J]. *Journal of Natural Products*, 2020, 83(11): 3413-3423.
- [18] POLLOCK N, FOWLER G, TWYMAN L J, et al. Synthesis and characterization of immobilized PAMAM dendrons[J]. *Chemical Communications*, 2007(24): 2482.
- [19] LEE J W, KIM J H, KIM B. Synthesis of azide-functionalized PAMAM dendrons at the focal point and their application for synthesis of PAMAM-like dendrimers[J]. *Tetrahedron Letters*, 2006, 47(16): 2683-2686.
- [20] 马小云. 酰胺、脲的合成反应研究[D]. 南京: 南京理工大学, 2014.
MA Xiaoyun. Study on the synthesis of amide and ni-

- trile[D]. Nanjing: Nanjing University of Science & Technology, 2014.
- [21] WEI M Y, WANG C F, WANG K L, et al. Preparation, structure, and potent antifouling activity of sclerotioramine derivatives[J]. *Marine Biotechnology*, 2017, 19(4): 372-378.
- [22] WANG X, YU L M, LIU Y J, et al. Synthesis and fouling resistance of capsaicin derivatives containing amide groups[J]. *Science of The Total Environment*, 2020, 710: 136361.
- [23] 郑纪勇, 赵守焕, 蔺存国. 海洋天然防污活性物质及其抗海洋生物粘附的机理[J]. *腐蚀与防护*, 2015, 36(Sup2): 45-48, 54.
ZHENG Jiyong, ZHAO Shouhuan, LIN Cunguo. Natural marine products with antifouling activities and the mechanisms of preventing marine organism fouling[J]. *Corrosion & Protection*, 2015, 36(Sup2): 45-48, 54.
- [24] 檀根甲, 祝建平. 杀菌剂生物测定计算方法及应用[J]. *安徽农学通报*, 1998(1): 28-29.
TAN Genjia, ZHU Jianping. Calculation method and application of bactericide bioassay[J]. *Anhui Agricultural Science Bulletin*, 1998(1): 28-29.
- [25] 赵旭娜, 张高勇, 丁进亚, 等. 季铵盐类阳离子表面活性剂的生物效应[J]. *中国消毒学杂志*, 2006, 23(1): 68-70.
ZHAO Xuna, ZHANG Gaoyong, DING Jinya, et al. Biological effects of quaternary ammonium cationic surfactants[J]. *Chinese Journal of Disinfection*, 2006, 23(1): 68-70.
- [26] 陈耀, 周成成, 王毅琳. 寡聚表面活性剂与磷脂的相互作用及其抗菌能力[C]. 中国化学会第十六届胶体与界面化学会议, 2017年7月25-28日, 山东 青岛.
CHEN Yao, ZHOU Chengcheng, WANG Yilin. Interactions of oligomeric surfactants with phospholipid vesicles and their antibacterial activities[C]. 16th Colloidal and Interface Chemistry Conference, Chinese Chemical Society, July 25-28, 2017, Qingdao, China.
- [27] 谢尔瓦妮古丽 苏来曼, 成婕, 邓祥元, 等. 防污剂 Irgarol 1051 对三角褐指藻生长及生理特性的影响[J]. *海洋科学*, 2016, 40(4): 54-58.
XIEERWANIGULI Sulaiman, CHEN Jie, DENG Xiangyuan, et al. Effects of Irgarol 1051 on the growth and physiological characteristics of *Phaeodactylum tricorutum*[J]. *Marine Sciences*, 2016, 40(4): 54-58.
- [28] ZAKHAROVA L Y, PASHIROVA T N, DOKTOROVOVA S, et al. Cationic surfactants: self-assembly, structure-activity correlation and their biological applications[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(22): 5534.
- [29] GAO Q Z, YANG L L, ZHU Y Q. Pharmacophore based drug design approach as a practical process in drug discovery[J]. *Current Computer-Aided Drug Design*, 2010, 6(1): 37-49.
- [30] MIGAHED M A, NEGM N A, SHABAN M M, et al. Synthesis, characterization, surface and biological activity of diquaternary cationic surfactants containing ester linkage[J]. *Journal of Surfactants and Detergents*, 2016, 19(1): 119-128.

Preliminary study of the antifouling active groups of benzamide compounds

XUN Jing-yi^{1, 2}, ZHENG Ji-yong², CHENG Xu-dong¹, MA Li², ZHANG Hong-quan¹, LIN Cun-guo²

(1. School of Materials Science and Engineering, Wuhan University of Technology, Wuhan 430070, China;
2. State Key Laboratory for Marine Corrosion and Protection, Luoyang Ship Material Research Institute, Qingdao 266237, China)

Received: Dec. 24, 2021

Key words: benzamide compounds; diatom attachment; antifouling; structure-activity relationship

Abstract: The development of green antifoulants is an important research direction for marine antifouling coatings, and the identification of antifouling active groups in the molecular structure of active compounds is crucial in designing and developing new antifoulants. In this study, three benzamide compounds, namely, HNOB, DOLPA, and DHNOB with similar structures, were synthesized, and their molecular structures were characterized via FTIR, ¹H NMR, and ¹³C NMR analysis techniques. The effects of these compounds on the adhesion of diatoms and mussels were tested. Next, their molecular structures and antifouling activities were compared, and the active groups affecting the antifouling performance were discussed. The adhesion experiments of diatoms and mussels demonstrated that HNOB exhibited better antifouling performance, and its half inhibitory concentration was considerably lower than those of DOLPA and DHNOB. The synergistic effect of polar and nonpolar structures was observed to be better than that of the single polar group or nonpolar long carbon chain group in endowing benzamide with good antifouling performance. This study explores the conformational relationships of benzamide analogs, which can help the design and development of new antifoulants and structural optimization and is important for the rapid screening of promising antifoulants.

(本文编辑: 赵卫红)