

苯并异噻唑啉酮衍生物的合成及其抑菌性能

许凤玲^{1,3}, 林强², 张树芳^{1,3}, 侯保荣¹

(1.中国科学院 海洋研究所, 山东 青岛 266071; 2.海南大学, 海南 海口 570228; 3.中国科学院 研究生院, 北京 100039)

摘要: 以 1,2-苯并异噻唑啉-2(3H)-酮为原料合成了其新的衍生物 2-[1,2-苯并异噻唑啉-2(3H)-酮]-乙酰肼和系列 N'-(芳基亚甲基)-2-[1,2-苯并异噻唑啉-2(3H)-酮]-乙酰肼衍生物, 目标化合物的结构经元素分析、IR、UV、¹H NMR 和质谱确证, 并对其波谱性质进行了讨论。测试了苯并异噻唑啉酮化合物对 5 种水生菌大肠杆菌 (*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*) 的抑制活性。结果表明, 此类化合物在 100 × 10⁻⁶ mol/L 下抑菌率均达到 90% 以上, 有良好的抑菌活性。

关键词: 苯并异噻唑啉酮; 合成; 抑菌活性

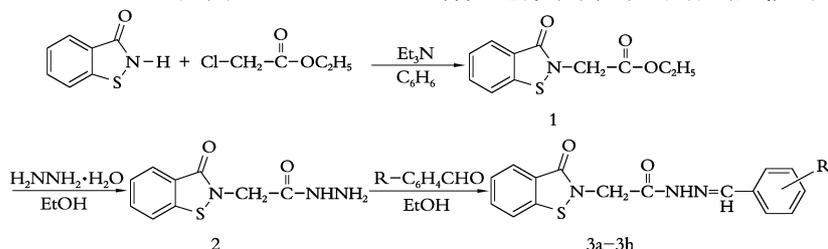
中图分类号: O 621.3

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2008)05-0062-05

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。由于海洋菌会引起生物膜的形成, 而生物膜是生物污损的基础, 所以抑制海洋菌成为防止生物污损的主要目标, 研制开发具有抑制海洋菌的仿生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^[1,2]。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-异噻唑啉-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^[3,4]。同时酰肼、脲类化合物均有杀菌活性^[5], 将他们相互叠加有望实现生物活性的叠加和拓宽抗菌谱。鉴于此作者合成了含酰肼、脲结构的苯并异噻唑啉酮的衍生物, 并对其抑菌活性进行了测试。合成路线如下:



1 材料与实验方法

1.1 仪器与试剂

XT4-100A 显微熔点仪(控温型), SHIMADZU UV-2450 紫外可见分光光度仪, Biorad FT 40 红外光谱仪(KBr 压片), BRUKER av-400 型核磁共振仪, BRUKER DALTONICS 型质谱仪, MT23 型元素分析仪。所用试剂未经说明, 均为市售分析纯。2-[1,2-苯并异噻唑啉-2(3H)-酮]-乙酸乙酯(1)按照文献^[6]制备。

1.2 合成方法

1.2.1 2-[1,2-苯并异噻唑啉-2(3H)-酮]-乙酰肼(2)的合成

取 0.01 mol (1,2-苯并异噻唑啉酮)-乙酸乙酯(1)溶于乙醇, 加 0.01 mol 85% 的水合肼, 常温搅拌即

收稿日期: 2007-02-20; 修回日期: 2007-07-10

基金项目: 国家自然科学基金项目 (40376023); 海南省自然科学基金项目 (20503)

作者简介: 许凤玲 (1980-), 女, 山东莱芜人, 博士研究生, 研究方向为海洋化学, 电话: 0532-82898731, E-mail: xufengling1980@yahoo.com.cn

有沉淀生成, 抽滤, 乙醇重结晶得产物。收率: 80%, m. p. : 141~143 °C。

1.2.2 N'-(芳基亚甲基)-2-[1,2-苯并异噻唑-2(3H)-酮]-乙酰肼(3a-3h)的合成

取 1 mmol 2-[1,2-苯并异噻唑-2(3H)-酮]-乙酰肼(2)溶于热乙醇, 加热搅拌回流, 滴加 1 mmol 取代苯甲醛, 反应过程有沉淀生成, 反应 6 h, 趁热过滤, EtOH-THF 重结晶。

1.3 抑菌活性测试

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 种水生菌的抑菌实验。方法如下: 在 1.5 L 的离心管内加入 890 μ L 液体培养基、10 μ L 菌悬液和 100 μ L 不同浓度的药品 (对照实验为未放药品的空白实验组), 放在振荡培养箱内 28°C 培养 24 h。将培养 24 h 后的菌-药混合液进行稀释, 取 100 μ L 已稀释好的菌液, 在平板上涂布并培养 24 h 后, 计算菌落数, 以确定该药物在不同浓度时的杀菌效果。

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

2 结果与讨论

2.1 结构表征

所合成化合物的光谱学数据如下:

2-[1,2-苯并异噻唑-2(3H)-酮]-乙酰肼(2): MS(ESI), m/z: 223.2 (M^+); UV (DMSO): λ max: 303.4, 258.6 nm; IR (KBr), σ / cm^{-1} : 3441 (NH), 3 046~2 686 (CH), 1 641 (O=C); ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 4.041 (s, 2H), 4.041 (d, 2H), 7.32~7.73 (m, 4H), 9.10~9.13 (t, 1H); Anal. calcd. for $\text{C}_9\text{H}_9\text{N}_3\text{O}_2\text{S}$: C 48.42, H 4.06, N 18.82; found C 48.40, H 4.06, N 18.62。

3a: 收率: 75%, m. p. 211~213°C; MS (ESI) m/z: 311.4 (M^+); UV (DMSO): λ max: 294.80, 274.80 nm; IR (KBr), σ / cm^{-1} : 3 217 (NH), 1 647(O=C), 1 585 (C=N); ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 4.12 (s, 2H), 7.01~7.70 (m, 9H), 7.88 (s, 1H), 8.01 (s, 1H); Anal. calcd. for $\text{C}_{16}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_2\text{S}$: C 61.72, H 4.21, N 13.50; found C 61.60, H 4.21, N 13.39。

3b: 收率: 85%, m. p. : 189~191°C; MS (ESI) m/z: 345.8 (M^+); UV (DMSO): λ max: 310.60, 247.40 nm; IR (KBr), σ / cm^{-1} : 3 289 (NH), 1 683 (O=C), 1633 (C=N); ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz), δ : 4.17 (s, 2H), 7.52~8.73 (s, 8H), 9.11 (s, 1H), 9.12

(s, 1H); Anal. calcd. for $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{ClN}_3\text{O}_2\text{S}$: C 55.57, H 3.50, N 12.15; found C 55.46, H 3.39, N 12.08。

3c: 收率 82%, m. p. 184~185°C; MS (ESI) m/z: 345.8 (M^+); UV (DMSO): λ max: 324.4, 259.2 nm; IR (KBr), σ / cm^{-1} : 3 288 (NH), 1 690 (O=C), 1 603 (C=N); ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 4.18 (s, 2H), 7.22~7.98 (m, 8H, ArH), 8.12 (s, 1H), 9.01 (s, 1H); Anal. calcd. for $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{ClN}_3\text{O}_2\text{S}$: C 55.57, H 3.50, N 12.15; found C 55.48, H 3.40, N 12.11。

3d: 收率 88%, m.p. 202~203°C; MS (ESI) m/z: 329.4 (M^+); UV (DMSO): λ max: 295.6, 258.0 nm; IR (KBr), σ / cm^{-1} : 3 281(NH), 1 688(O=C), 1 638(C=N); ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 4.12 (s, 2H), 7.20~7.88 (m, 8H, ArH), 8.01 (s, 1H), 8.94 (s, 1H); Anal. calcd. for $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{FN}_3\text{O}_2\text{S}$: C 58.35, H 3.67, N 12.76; found C 58.29, H 3.65, N 12.55。

3e: 收率 80%, m.p. 198~199 °C; MS (ESI) m/z: 390.3(M^+); UV (DMSO): λ max: 315.3, 262.5 nm; IR (KBr), σ / cm^{-1} : 3 285 (NH), 1 688 (O=C), 1 598 (C=N); ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 4.15 (s, 2H), 7.31~8.02 (m, 8H, ArH), 8.11 (s, 1H), 9.01 (s, 1H); Anal. calcd. for $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{BrN}_3\text{O}_2\text{S}$: C 49.24, H 3.10, N 10.77; found C 49.13, H 3.10, N 10.65。

3f: 收率 83%, m.p. 235~236 °C; MS (ESI) m/z: 325.4(M^+); UV (DMSO): λ max: 296.0, 269.8 nm; IR (KBr), σ / cm^{-1} : 3 283(NH), 1 683(O=C), 1 634 (C=N); ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 2.34 (s, 3H), 4.44 (s, 2H), 7.25~7.99(m, 8H, ArH), 8.90(s, 1H), 11.50(s, 1H); Anal. calcd. for $\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_2\text{S}$: C 62.75, H 4.65, N 12.91; found C 62.64, H 4.53, N 12.81。

3g: 收率 78%, m.p. 167~168°C; MS (ESI) m/z: 341.4 (M^+); IR (KBr), σ / cm^{-1} : 3 286 (NH), 1 640 (O=C), 1 587 (C=N); ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 4.03 (s, 3H), 5.14 (s, 2H), 7.164~8.020 (m, 8H, ArH), 8.801 (s, 1H), 9.230(s, 1H); Anal. calcd. for $\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_3\text{S}$: C 59.81, H 4.43, N 12.31; found C 59.69, H 4.40, N 12.27。

3h: 收率 88%, m.p. 171~172°C; MS (ESI) m/z: 356.4 (M^+); IR (KBr), σ / cm^{-1} : 3 283 (NH), 1 640 (O=C), 1 535 (C=N); ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 4.66 (s, 2H), 7.204~8.201 (m, 8H, ArH), 8.470 (s, 1H), 12.101 (s, 1H); Anal. calcd. for $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{O}_4\text{S}$: C 53.93, H 3.39, N 15.72; found C 53.72, H 3.38, N 15.65。

IR 光谱分析: 化合物 2 在 1 712 cm^{-1} 处没有吸收峰, 说明 2 中没有 O=C, 1 641 cm^{-1} 说明有 C=N 存在。化合物 3a~3h 在 1 535~1 638 cm^{-1} 处出现强吸

收峰, 为 C=N 吸收峰。

UV 光谱分析: 所有化合物的紫外可见光谱图在 250 nm 处的中等强度吸收峰与 310 nm 左右处的高强度吸收峰分别为苯酮基的 K 带和 R 带的紫外吸收。

¹H NMR 谱图分析: 在化合物 2 的 ¹H NMR 谱中, 4.176 的单峰为 CH₂ 吸收峰, 4.026~4.041 处的二

重峰为 NH₂ 吸收峰, 9.10~9.13 处的三重峰为 NH 吸收峰, 7.32~7.73 的峰为苯环上氢吸收峰。在化合物 3a~3h 的 ¹H NMR 谱中, 9.0~12.0 左右处的峰为 CH 吸收峰, 8.0 左右处的峰为 NH 吸收峰。

2.2 抑菌活性

合成化合物对 5 种菌的作用效果见下表 1~表 5。

表 1 化合物对大肠杆菌的作用效果

Tab.1 Inhibitor activity of compounds against *Escherichia coli*

化合物浓度 (10 ⁻⁶ mol/L)	化合物相对抑菌率 (%)						
	2	3a	3f	3c	3d	3e	3b
0.1	0	0	0	0	0	0	0
1	15	0	17	13	0	0	0
10	58	27.3	77	38.3	54	88	43
100	100	94.5	97.7	95.3	96	97	93.7

表 2 化合物对金黄色葡萄球菌的作用效果

Tab.2 Inhibitor activity of compounds against *Staphylococcus aureus*

化合物浓度 (10 ⁻⁶ mol/L)	化合物相对抑菌率 (%)						
	2	3a	3f	3c	3d	3e	3b
0.1	10.5	0	0	0	0	10.8	18
1	13	1.3	0	2	0	21.6	0
10	15.7	5.9	3.3	5.2	0	73.8	25.5
100	99.6	8.5	38.6	70	53	97	47.7
1000	99.9	99.8	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9

表 3 化合物对枯草芽孢杆菌的作用效果

Tab.3 Inhibitor activity of compounds against *Bacillus subtilis*

化合物浓度 (10 ⁻⁶ mol/L)	化合物相对抑菌率 (%)						
	2	3a	3f	3c	3d	3e	3b
0.1	55	0	0	38.7	0	0	0
1	57.5	0	38.7	32.5	0	0	0
10	62.5	0	41.3	47.5	0	87.5	13.7
100	100	83.7	78.7	92.5	45	100	15

表 4 化合物对溶藻弧菌的作用效果

Tab.4 Inhibitor activity of compounds against *Vibrio alginolyticus*

化合物浓度 (10 ⁻⁶ mol/L)	化合物相对抑菌率 (%)						
	2	3a	3f	3c	3d	3e	3b
0.1	47.2	11.4	16.7	70.4	95.2	97	14.9
1	91.2	83.3	86	95	95.8	97.5	86
10	92.7	88.3	85.3	95.4	96.6	97.7	87.6
100	100	90.6	91.5	100	100	100	88.7

表 5 化合物对嗜水气单胞菌的作用效果

Tab.5 Inhibitor activity of compounds against *Aeromonas hydrophila*

化合物浓度 (10^{-6} mol/L)	化合物相对抑菌率(%)						
	2	3a	3f	3c	3d	3e	3b
0.1	11	0	0	0	0	10	18
1	13	1.3	0	2	0	21.6	0
10	15.7	5.9	3.3	5.2	0	73.9	25.5
100	99.6	8.5	38.6	70	53	97	48
1000				>99			

从表 1 可以看出, 在药物浓度为 0.1×10^{-6} mol/L 到 1×10^{-6} mol/L 时, 药物抑制率较低。当浓度增加到 10×10^{-6} mol/L 时, 所测化合物均起到一定的抑菌作用, 以化合物 **3e** 抑菌效率最高, 抑菌率达 88 %, 其次是化合物 **3f**, **2**, **3d**, 抑菌率分别达到 77 %, 58 %, 57 %, 54 %。当浓度增加到 100×10^{-6} mol/L 时, 抑菌效果大幅度增加, 化合物 **2** 的抑制率达到 100 %, 最低抑菌率也达到 93 % 以上。

从表 2 可以看出, 在药物浓度为 0.1×10^{-6} , 1×10^{-6} mol/L 时化合物相对抑菌率偏低。当浓度增加至 10×10^{-6} mol/L 时, 化合物 **3e** 抑菌率显著增加, 为 73.8 %。当浓度增加到 100×10^{-6} mol/L 时, 化合物 **2**, **3e**, **3c** 的抑菌活性显著增加, 相对抑菌率分别为 99.6 %, 97 %, 70 %。浓度增加到 1000×10^{-6} mol/L 时所有化合物的抑菌率均高于 99 %。

从表 3 数据看, 药品浓度为 0.1×10^{-6} mol/L 时化合物 **2**, **3c** 就起到抑菌作用, 相对抑菌率分别为 55 %, 38.7 %。当浓度增加至 10×10^{-6} mol/L 时, **2**, **3e** 的作用效果较好, 相对抑菌率分别达到了 87.5 %, 62.5 %。当浓度增加到 100×10^{-6} mol/L 时除 **3b** 的抑菌率较低外, 其余化合物活性均较高, 化合物 **2**, **3e** 的抑菌率达到 100 %, 其次是 **3c**, **3a**, **3f**, 抑菌率分别为 92.5 %, 83.7 %, 78.7 %。

从表 4 数据看, 当药物浓度为 0.1×10^{-6} mol/L 时所合成的化合物均已起到一定的抑制作用, **3e** 作用效果最好, 相对抑菌率达到 97 %, 其次是 **3d**, **3c**, 相对抑菌率分别为 95.2 % 和 70.4 %。随浓度的升高, 浓度为 1×10^{-6} mol/L 时抑菌作用明显增加, 所有化合物中最低相对抑制率也达到了 83.3 %。 10×10^{-6} mol/L 时相对 1×10^{-6} mol/L 时抑菌率增加不明显, 当浓度增加到 100×10^{-6} mol/L 时化合物 **2**, **3c**, **3d**, **3e** 的抑菌率均达到了 100 %。其次, 化合物 **3f**, **3a**, **3b** 的抑菌率分别为 91.5 %, 90.6 %, 88.7 %。

从表 5 数据看, 当浓度增加到 10×10^{-6} mol/L 时, **3e** 抑菌效果最好, 相对抑菌率达 73.9 %, 其余化合物抑菌效果不明显。浓度增加到 100×10^{-6} mol/L 时, 部分化合物的抑菌效果有了明显增加,

以化合物 **2**, **3e**, **3c** 作用效果较好, 相对抑菌率分别达到 99.6 %, 97 %, 70 %。 1000×10^{-6} mol/L 时所有化合物均起到非常好的抑菌效果, 抑菌率均达到 99 % 以上。

总体上, 随着浓度的增加, 所测化合物均有抑菌活性, 而且均是对溶藻弧菌作用效果最好, 明显优于对其他菌的抑制作用, 其次是对枯草芽孢杆菌。在药物浓度为 100×10^{-6} mol/L 时, 化合物 **2**, **3c**, **3d**, **3e** 对溶藻弧菌、化合物 **2**, **3e** 对枯草芽孢杆菌和化合物 **2** 对大肠杆菌的抑菌率都达到了 100 %。所有新合成化合物中以 **3e**, **2** 活性最好, 在 0.1×10^{-6} mol/L 时 **3e** 对溶藻弧菌的相对抑菌率已达 97 %。

2.3 结构与活性关系讨论

衍生物之间活性的不同主要基于取代基对生物活性的影响。一般当 R 为吸电子基团如 Br, Cl, F 时活性大于给电子基团。吸电子基团的吸电子作用使苯环上静电荷增加, 与苯环相连的氢的电正性增加, 易于与 DNA 中电负性较高的原子形成氢键。整体上看, 有卤素取代的化合物活性较高。从结果还可看出衍生物之间在同一浓度下的杀菌活性差异不大, 可以说明此类化合物的杀菌活性中心仍然为异噻唑酮环。

3 结论

以苯并异噻唑酮为原料合成了 9 种未见文献报道的苯并异噻唑酮化合物, 其结构经 IR、UV、HNMR、MS、元素分析确证。化合物对 5 种水生菌的抑菌活性的测试结果表明, 化合物对 5 种菌具有抑制活性, 有望开发为有效的防污剂。下一步开展的工作将集中在测试对实海结构物生物污损的防污效果。

参考文献:

- [1] 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.
- [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] 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.
- [4] Steen RJCA, Ariese F, Hattum B, *et al.* A monitoring and evaluation of the environmental dissipation of the marine antifoulant 4,5-dichloro-2-n-octyl-4-isothiazolin-3-one (DC-OIT) in a Danish Harbor[J]. **Chemosphere**, 2004, 57(6): 513-521.
- [5] Palomba M, Pintore G, Boatto G, *et al.* Fungicidal activity of some o-nitrophenyl-hydrazones[J]. **II Farmaco**, 1996, 51(1): 79-84.
- [6] Bilge C, Engin Y, Taner E, *et al.* Synthesis and anticonvulsant activity of some (2/4-substituted) Benzaldehyde(2-oxobenzothiazolin-3-yl)acetohydrazones[J]. **II Farmaco**, 1999, 54: 842-845.

Synthesis and antibacterial activity of benzisothiazolone derivatives

XU Feng-ling^{1,3}, LIN Qiang², ZHANG Shu-fang^{1,3}, HOU Bao-rong¹

(1. Institute of Oceanology, the Chinese Academy of Science, Qingdao 266071, China; 2. Science and Engineering College of Hainan University, Haikou 570228, China; 3. Graduate School of Chinese Academy of Science, Beijing 100039, China)

Received: Feb., 20, 2007

Key words: Benzisothiazolone; synthesize; antibacterial activity

Abstract: Novel compounds 2-(3-oxobenzothiazol-2(3H)-yl)acetohydrazide and hydrazones of (3-oxobenzothiazol-2(3H)-yl)acetohydrazide were synthesized with benzisothiazolone and their structures were confirmed by means of UV, IR, MS, elemental analysis and ¹H NMR. The antibacterial activity of the compounds was tested on five kinds of bacteria including *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio alginolyticus*, *Aeromonas hydrophila*, and *Bacillus subtilis*. The results show that the compounds have a good antibacterial activity and the inhibit efficiency is over 90% in the concentration of 100×10^{-6} mol/L.

(本文编辑: 张培新)