

N-乙酰基苯并噁唑啉酮及金属配合物的合成、生物活性和分子对接研究

杨丹, 罗富瑾, 杨颖婷, 刘闯, 朱华玲^{通信作者}, 吕丽娟

(天津农学院 基础科学学院, 天津 300384)

摘要: 苯并噁唑啉酮类化合物具有杀虫、杀菌、除草、植物生长调节、异株克生以及消炎等广泛生物活性, 在植物自我防御中起着重要作用。为寻找新型活性化合物, 合成了乙酰基苯并噁唑啉酮及其铜、镍和锌配合物, 对合成的配合物进行了红外、紫外等结构表征, 除草、抑菌活性测试和分子对接研究。试验结果表明, 乙酰基苯并噁唑啉酮的铜配合物具有明显的抑制大肠杆菌和枯草芽孢杆菌的能力, 有望开发成广谱抗菌药。3 种配合物对小麦、油菜和稗草都有明显的抑制能力, 特别是对油菜根的抑制能力尤为突出, 接近 100%, 有开发成除草剂的潜在优势。分子对接的结果表明, 3 种配合物与原卟啉原氧化酶的对接能较低, 抑制常数较小, 3 种配合物可能是通过抑制原卟啉原氧化酶的活性而表现出除草活性的。

关键词: 苯并噁唑啉酮; 配合物; 生物活性; 分子对接

中图分类号: O621.1

文献标识码: A

Synthesis, biological activity and molecular docking of N-acetyl benzoxazolinone and its metal complexes

YANG Dan, LUO Fu-cui, YANG Ying-ting, LIU Chuang, ZHU Hua-ling^{Corresponding Author}, LÜ Li-juan
(College of Basic Science, Tianjin Agricultural University, Tianjin 300384, China)

Abstract: Benzoxazolinone derivatives have an important role in the self defense of plants, such as insecticidal, bactericidal, weed killing, plant growth regulation, hetero bioactivity and anti-inflammatory activity. In order to find new active compounds, Acetyl-benzoxazolinone and its copper, nickel and zinc complexes were synthesized. The IR and UV characterization, herbicidal, anti-bacterial activities and molecular docking of the synthetic complexes were carried out. The experimental results show that the copper complex of acetyl benzoxazolinone has the ability to inhibit *Escherichia coli* and *Bacillus Subtilis*, and is expected to be developed to be a broad-spectrum antimicrobial agent. The three complexes have obvious inhibition ability to wheat, rape and barnyard grass, especially the inhibition rate to rape root, close to 100%, which suggest that they have the potential advantage of developing herbicide. The results of molecular docking show that the docking energy of the three complexes with protoporphyrinogen oxidase is low and the inhibition constant is small. The three complexes show herbicidal activity probably by inhibiting the activity of protoporphyrinogen oxidase.

Key words: benzoxazolinone; complexes; biological activity; molecular docking

寻找植物源抗菌、杀虫或除草化合物一直是国际植物保护, 尤其是新农药研究开发中被广泛关注的热点^[1]。作为植物次生物质的一种, 苯并噁唑啉酮化合物具有显著的抗肿瘤^[2]、抗炎^[3]、抗 HIV^[4]、抗菌杀菌^[5]以及褪黑素受体拮抗^[6]等生物活性, 在植物自我防御中起着重要的作用^[7], 广泛应用于生物、医药等方面^[8]。以苯并噁唑啉酮为母体, 开发研究新的农药先导化合物具有十分重要的意

义^[9], 目前的研究已发现一些苯并噁唑啉酮衍生物有杀菌、除草和杀虫活性, 以及植物生长调节和昆虫拒食作用^[10]。但关于苯并噁唑啉酮的金属配合物研究还较少。本文主要合成了 3 种未见文献报道的乙酰基苯并噁唑啉酮金属配合物, 并对合成的化合物进行了抑菌和除草活性测试, 进一步通过分子对接方法研究了合成化合物与原卟啉原氧化酶的相互作用。

收稿日期: 2018-07-11

基金项目: 天津农学院大学生创新创业项目 (201710061109); 天津自然科学基金项目 (15JCQNJC13400)

作者简介: 杨丹 (1995-), 女, 本科在读, 研究方向: 应用化学。联系电话: 022-23784019。

通信作者: 朱华玲 (1975-), 女, 副教授, 硕士, 研究方向: 功能化合物的合成与活性。E-mail: zhuhualing2004@126.com。

1 材料与方法

1.1 仪器和药品

美国 Bruker 公司 400 MHz 型核磁共振仪(TMS 为内标, DMF-d 为溶剂); FTIR-850 型傅里叶变换红外光谱仪; UV-1800 紫外可见分光光度计; CHN CORDER MF-3 型元素分析仪; DX-35BI 型立式压力蒸汽灭菌锅; WRS-1B 数字熔点仪; LRH-250-S 电热恒温培养箱。

苯并噁唑啉酮购自成都贝斯特试剂有限公司; 乙酰氯购自天津江天统一化学试剂有限公司; 醋酸锌购自天津市北方天医化学试剂厂; 醋酸铜购自天津基准化学试剂有限公司; 醋酸镍购自天津市兴复精细化工研究所。

1.2 N-乙酰基苯并恶唑啉酮的合成

取苯并噁唑啉酮 0.01 mol (1.35 g), 三乙胺 0.015 mol (1.52 g), 加入 50 mL 二氯甲烷, 搅拌使其充分溶解, 冰浴到 0 °C, 缓慢滴加溶有 0.012 mol 乙酰氯的二氯甲烷溶液 20 mL, 大约 1 h 滴完, 0 °C 下搅拌反应 30 min。反应液用 30 mL 饱和氯化钠水洗涤 2 次, 有机层经无水氯化钙干燥, 除去溶剂。无水乙醇重结晶得浅黄色片状晶体, mp: (139±1) °C; IR (KBr) ν : 3 441 (w), 3 125 (w), 3 044 (w), 2 938 (w), 1 816 (s), 1 726 (s), 1 602 (m), 1 479 (s), 1 377 (s), 1 317 (s), 1 254 (m), 1 151 (s), 1 024 (s), 922 (w), 746 (s) cm^{-1} ; UV: 245 (2.6), 256 (1.4), 270 (0.8)。

1.3 N-乙酰基苯并恶唑啉酮金属配合物的合成

按照摩尔比 1:2 称取醋酸锌和 N-乙酰基苯并噁唑啉酮, 微热使之分别溶于 50 mL 无水乙醇中。搅拌下将 N-乙酰基苯并噁唑啉酮溶液缓慢滴入醋酸锌溶液中, 回流 3 h, 溶液变浑浊, 除去大部分溶剂, 析出白色固体, 过滤, 真空干燥。用相同方法合成 N-乙酰基苯并噁唑啉酮的铜、镍配合物, 分别得到棕色固体和浅绿色固体。所得化合物的部分物理数据如下。

N-乙酰基苯并噁唑啉酮合锌, mp: (243±1) °C; IR (KBr) ν : 3 400 (w), 3 064 (w), 2 987 (w), 1 761 (m), 1 668 (s), 1 599 (s), 1 551 (s), 1 472 (s), 1 452 (s), 1 331 (m), 1 259 (s), 1 009 (s), 955 (w), 771 (w), 741 (w), 694 (m), 518 (m) cm^{-1} ; UV: 245 (3.0), 256

(1.3), 273 (0.1)。

N-乙酰基苯并噁唑啉酮合铜, mp: (87±1) °C; IR (KBr) ν : 3 401 (w), 3 062 (w), 2 983 (w), 1 762 (m), 1 655 (s), 1 615 (s), 1 596 (m), 1 532 (s), 1 472 (s), 1 417 (s), 1 319 (m), 1 259 (s), 1 165 (w), 1 054 (w), 766 (s), 514 (m) cm^{-1} ; UV: 242 (1.2), 256 (1.4), 276 (0.3)。

N-乙酰基苯并噁唑啉酮合镍, mp: ≥ 320 °C; IR (KBr) ν : 3 429 (w), 3 014 (w), 2 938 (w), 1 718 (s), 1 683 (s), 1 610 (m), 1 448 (s), 1 384 (s), 1 341 (s), 1 257 (m), 1 151 (s), 1 034 (s), 942 (w), 682 (s), 514 (m) cm^{-1} ; UV: 247 (1.8), 256 (0.8), 276 (0.2)。

1.4 抑菌活性测定

将化合物分别配成质量浓度为 5.00、2.50、1.25 mg/mL 的 DMF 溶液, 以 DMF 做空白对照, 采用单片纸碟法于 37 °C 在恒温培养箱中恒温培养 24 h, 通过测定抑菌圈的大小来反映化合物抑菌能力的高低。

1.5 除草活性测定

用平皿法测定合成化合物对小麦、油菜、稗草的抑制活性^[11]。称取 N-乙酰基苯并噁唑啉酮合锌、N-乙酰基苯并噁唑啉酮合铜、N-乙酰基苯并噁唑啉酮合镍各 0.005 g, 分别加入 2 mL DMF 溶液使其全部溶解, 然后用蒸馏水将其定容至 50 mL, 配成浓度为 100 $\mu\text{g/mL}$ 的药液, 将其经 2 次成倍稀释, 最终配成 100、50、25 $\mu\text{g/mL}$ 的药液, 以同浓度 DMF 水溶液做对照试验。

取 3 个浓度的药液各 4 mL, 加至垫有 2 张大小一致的 9 cm 滤纸的培养皿中, 在每个培养皿中加入颗粒均匀、刚露白的小麦、油菜、稗草种子各 10 粒, 将培养皿盖上, 在 (27±1) °C 下培养 96 h, 培养结束后, 测定根长和芽长。计算平均值, 并按下式计算抑制率。

抑制率 (%) = [(对照处理-药剂处理)/对照处理] × 100%

1.6 分子对接研究

配体分子准备: 根据结构表征的结果确定合成配合物的结构, 利用 Chemdraw 绘制配合物的平面结构, 在 Chem3D 中转换成 3D 构象, 再利用 Autodock-tools 1.5.6^[12]处理, 使配体上可旋转键在

对接中可旋转, 形成晶体构象, 保存构象文件, 备用。

受体分子准备: 原卟啉原氧化酶 (PPO) 的三维构象从 <http://www.rcsb.org> 网站下载获得, 其蛋白质 PDB 编码为 1SEZ^[13], 用 Autodock-tools 1.5.6 软件打开显示 PPO 构象, 删除构象中的水分子配体, 保存构象文件, 备用。

分子对接: 采用拉马克算法进行分子对接, 对配体和受体加极性氢和 Gasteiger 电荷, 使用子程序 AutoGrid 进行格点设置, 运用 Autodock 4.2 程序^[14]进行分子对接, 采用拉马克遗传算法^[15-18]搜索与活性位点匹配的 10 种可能配体对接构象, 对 10 种构象进行初步分析和筛选, 综合考虑能量越低越稳定的原理及对接位点等因素, 确定结合最有可能的构象。

2 结果与分析

2.1 化合物的红外、紫外表征分析

在 N-乙酰基苯并噁唑啉酮的红外谱图(表 1)中, 3 441 cm^{-1} 处的弱吸收峰属于—OH 伸缩振动, 这由互变异构共存问题引起; 在 3 125 cm^{-1} 处有吸收峰, 属于—NH 伸缩振动; 在 2 908 cm^{-1} 处有吸收峰, 属于饱和的 C—H 伸缩振动; 在 1 817 cm^{-1} 和 1 726 cm^{-1} 处各有 1 个吸收峰, 分别属于羰基、噁唑啉酮环羰基伸缩振动; 在 1 603 cm^{-1} 处有吸收峰, 属于苯环骨架的伸缩振动; 在 1 317 cm^{-1} 处有吸收峰, 属于 C—N(芳基碳)伸缩振动; 在 765 cm^{-1} 处有吸收峰, 属于 C—H(单取代)面外变形振动; 在 660 cm^{-1} 处有吸收峰, 属于 C—H(苯)面外伸缩振动。

形成配合物后, —OH、羰基和酮羰基的伸缩吸收峰均向低波数移动, 此现象说明 N-乙酰基苯并噁唑啉酮配体的羰基和酮羰基均失去了原有的性质, 参与了配位反应。同时, 配合物在 516~541 cm^{-1} 出现了新的 M—O 配位吸收峰, 表明形成了配位键。

表 1 N-乙酰基苯并噁唑啉酮及其金属配合物的主要红外光谱数据 cm^{-1}

产物	$\nu_{\text{—OH}}$	$\nu_{\text{羰基}}$	$\nu_{\text{酮羰基}}$	$\nu_{\text{M—O}}$
配体	3 441	1 817	1 726	—
锌配合物	3 400	1 761	1 668	518
铜配合物	3 402	1 762	1 655	514
镍配合物	3 429	1 718	1 683	514

注: 表中“—”表示没有吸收峰

N-乙酰基苯并噁唑啉酮及金属配合物的紫外图中均出现 3 个吸收峰, 分别属于苯环的 $\pi-\pi^*$ 跃迁、共轭体系的 $\pi-\pi^*$ 以及共轭体系的 $n-\pi^*$ 跃迁, 这表明化合物分子内存在大的共轭体系。当 N-乙酰基苯并噁唑啉酮配体与金属离子配位后, 其 R 带吸收峰红移, 说明配位后配体的共轭作用减弱, 是电子向金属离子转移所致。

2.2 抑菌活性

所得化合物对大肠杆菌和枯草芽孢杆菌的抑菌环直径如表 2 所示。

表 2 N-乙酰基苯并噁唑啉酮金属配合物的抑菌环直径

药物	浓度/ $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$	抑菌环直径/cm						抑菌环 均值/cm	
		枯草芽 孢杆菌			大肠 杆菌			枯草 芽孢 杆菌	大肠 杆菌
		1	2	3	1	2	3	均值	均值
锌配 合物	5.00	1.1	1.2	1.2	1.1	1.0	1.0	1.17	1.03
	2.50	0.9	1.2	1.1	0.8	1.0	0.9	1.07	0.90
	1.25	0.8	1.1	1.0	0.8	0.8	0.9	0.97	0.83
铜配 合物	5.00	2.2	2.3	2.3	2.2	2.3	2.4	2.27	2.30
	2.50	2.1	2.1	2.3	2.1	2.1	2.0	2.17	2.07
	1.25	1.8	1.8	1.9	2.1	1.9	2.0	1.83	2.00
镍配 合物	5.00	0.8	0.8	0.7	0.7	0.8	0.7	0.77	0.73
	2.50	0.7	0.7	0.8	0.8	0.7	0.8	0.73	0.77
	1.25	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.7	0.80	0.77
DMF	/	0.9	0.8	0.9	0.8	0.9	0.7	0.87	0.80

从表 2 可以看出, 配合物 N-乙酰基苯并噁唑啉酮合铜与 N-乙酰基苯并噁唑啉酮合锌对大肠杆菌和枯草芽孢杆菌有明显的抑制作用, 并且浓度越高, 抑制能力越好, 尤其是 N-乙酰基苯并噁唑啉酮合铜配合物在浓度为 1.25 mg/mL 时仍表现出高敏性, 表明该金属配合物有可能成为有效的广谱抑菌剂, 可作为重点关注目标进一步研究与考察。

2.3 除草活性

采用平皿法测定了合成配合物对小麦、油菜、稗草种子生长的抑制率, 如表 3 所示。

从表 3 可以看出, 3 种金属配合物对小麦、油菜和稗草种子均有一定的抑制能力, 且对单子叶植物小麦和稗草的抑制能力弱于对油菜的抑制能力, 同时表现出浓度升高抑制能力增强的特点。在低浓度时, 锌配合物对稗草根表现出一定的助长作用。尤其是锌配合物对油菜根的抑制率、镍配合物对油菜根和茎的抑制率几乎都达到 100%,

且不随浓度变化,表明这两种化合物可作为双子叶植物的生长抑制剂进行进一步的研究和利用。

表 3 N-乙酰基苯并噁唑啉酮金属配合物的抑制率

药品名称	药品浓度 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	根长(茎长)/cm			根(茎)抑制率/%		
		小麦	油菜	稗草	小麦	油菜	稗草
锌配合物	100	0.2 (0.2)	0.0 (0.6)	0.2 (0.8)	96.55 (95.91)	100.00 (40)	92.86 (78.37)
	50	2.7 (1.4)	0.0 (0.7)	2.7 (3.6)	53.44 (71.42)	100.00 (30)	3.50 (2.70)
	25	3.1 (2.8)	0.0 (0.8)	3.0 (3.6)	46.55 (42.85)	100.00 (20)	-7.10 (2.70)
铜配合物	100	0.1 (0.4)	0.1 (0.6)	0.2 (1.5)	98.27 (91.83)	93.75 (40)	92.86 (59.45)
	50	0.5 (1.4)	0.2 (0.9)	0.5 (3.1)	91.37 (71.42)	87.50 (10)	82.14 (16.21)
	25	0.9 (1.6)	0.8 (0.9)	1.8 (3.5)	84.48 (67.34)	50.00 (10)	35.71 (5.40)
镍配合物	100	0.2 (0.4)	0.0 (0.0)	0.2 (1.2)	96.55 (91.83)	100.00 (100)	92.86 (67.56)
	50	1.2 (1.0)	0.0 (0.0)	0.4 (1.8)	79.31 (79.59)	100.00 (100)	85.71 (51.35)
	25	1.4 (1.5)	0.0 (0.0)	1.4 (3.4)	75.86 (69.38)	100.00 (100)	50.00 (8.10)
DMF	/	5.8 (4.9)	1.6 (1.0)	2.8 (3.7)	0 (0)	0 (0)	0 (0)

2.4 分子对接研究

将 3 种金属配合物分别与原卟啉原氧化酶受体分子进行分子对接研究,所得配合物优势构象中最稳定构象的活性中心残基及对接作用力如图 1 所示,对接能和抑制常数如表 4 所示。

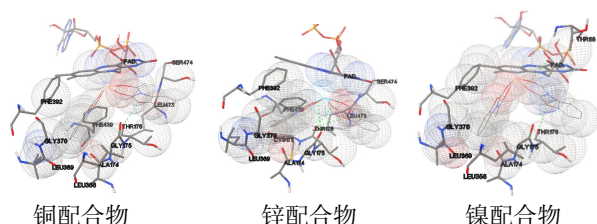


图 1 乙酰基苯并噁唑啉酮金属配合物与原卟啉原氧化酶对接最佳构象的活性中心残基及对接作用力

注:网格球代表分子间作用力,虚线代表氢键作用

表 4 金属配合物分别与原卟啉原氧化酶对接能和抑制常数

化合物	对接能	抑制常数
	kJ/mol	$\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$
铜配合物	-36.41	442.32
锌配合物	-38.18	216.34
镍配合物	-37.00	346.67

从图 1 可见,配合物与酶对接后活性中心附近有多氨基酸残基,其中疏水性残基有:Leu369、Leu356、Phe392、Phe439、Gly175、Gly370、Ala174、Cys177、Leu473、Ser474、FAD;亲水性残基比较少,仅 Thr176 与苯并噁唑啉酮 N 原子之间可形成稳定氢键,而且离子型残基没有,说明配合物与受体之间的作用力主要为疏水和氢键作

用。

虽然 3 种金属配合物与原卟啉原氧化酶之间的对接作用力都是分子间作用力和氢键作用,但形成的氢键数量是不同的,铜配合物与原卟啉原氧化酶之间的氢键只有 1 个,而镍配合物是 2 个,锌配合物是 3 个,这也决定了 3 种配合物对原卟啉原氧化酶的抑制能力是有差别的,形成的氢键数越多,抑制能力越好。

与表 4 中结果对比发现,形成氢键越多的化合物,其对接能越负,抑制常数越小。由表 3 中试验结果发现,3 种配合物对小麦、油菜和稗草的抑制能力都比较强,并且彼此相差不大,这与分子对接研究的结论很相似,由此我们初步判断乙酰基苯并噁唑啉酮金属配合物是通过抑制植物体内原卟啉原氧化酶活性而发挥除草剂作用的,可将其看做是原卟啉原氧化酶抑制剂型化合物。

3 结论

本文合成了乙酰基苯并噁唑啉酮及铜、镍和锌的金属配合物,对合成的配合物进行了红外、紫外等结构表征,除草、抑菌活性测试和分子对接研究。试验结果表明,乙酰基苯并噁唑啉酮铜配合物具有明显的抑制大肠杆菌和枯草芽孢杆菌的能力,有望开发成广谱抗菌药。3 种配合物对小麦、油菜和稗草都有明显的抑制能力,特别是对油菜根的抑制能力尤为突出,接近 100%,有开发成除草剂的潜在优势。分子对接的结果表明,3 种配合物与原卟啉原氧化酶的对接能较低,抑制常数较

小,3种配合物可能是通过抑制原卟啉原氧化酶的活性而表现出除草活性的。

参考文献:

- [1] 刘小红,周立刚,李健强. 苯并噻唑啉酮类化合物的研究进展[J]. 植物保护, 2003, 29 (4): 3-7.
- [2] Hall I H, Peaty N J, Henry J R, et al. Investigations on the mechanism of action of the nove antitumor agents 2-benzothiazolyl, 2-benzoxazolyl, and 2-benz-imidazolyl hydrazones derived from 2-acetylpyridine[J]. Arch Pharm, 1999, 332 (4): 115-123.
- [3] Safak C, Erdogan H, Palaska E, et al. Synthesis of 3-(2-pyridylethyl) benzoxazolinone derivatives: potent analgesic and anti-inflammatory compounds inhibiting prostaglandin E2[J]. J Med Chem, 1992, 35 (7): 1296-1299.
- [4] Saari W S, Wai J S, Fisher T E, et al. Synthesis and evaluation of 2-pyridinone derivatives as HIV-1-specific reverse transcriptase inhibitors.2.Analogues of 3-aminopyridin-2 (1H)-one[J]. J Med Chem, 1992, 35: 3792-3802.
- [5] Alper-Hayta S, Arisoy M, Temiz-Arpaci O, et al. Synthesis, antimicrobial activity, pharmaco-phoreanalysis of some new 2-(substitutedphenyl/benzyl)-5-[(2-benzofuryl)carboxamido] benzo-xazoles[J]. Eur J Med Chem, 2008, 43: 2568-2578.
- [6] Sun L Q, Chen J, Bruce M, et al. Synthesis and structure-activity relationship of novel benzoxazole derivatives as melatonin receptor agonists[J]. Bioorg Med Chem Lett, 2004, 14: 3799-3802.
- [7] Morrissey J P, Osbourn A E. Fungal resistance to plant antibiotics as a mechanism of pathogenesis[J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 1999, 63: 708-724.
- [8] 舒强锋,潘方来,李振华. 苯并噻唑类化合物合成研究进展[J]. 杭州化工, 2011 (3): 9-12.
- [9] 沈寅初,张一宾. 生物农药[M]. 北京: 化学工业出版社, 2000.
- [10] 袁莉萍,曹瑾,陈亮,等. N-取代苯并噻唑啉酮及N-取代苯并噻唑啉酮类化合物的合成和生物活性[J]. 现代农药, 2009, 8 (1): 15-19.
- [11] 张莉,刘洁,吴倩,等. 含甘二肽甲酯结构的 β -二酮衍生物的合成、除草抑菌活性及构效关系[J]. 天津农学院学报, 2017, 24 (1): 52-57.
- [12] Sanner M F. Python: a programming language for software integration and development[J]. Journal of Molecular Graphics & Modelling, 1999, 17 (1): 57-61.
- [13] Koch M, Breithaupt C, Kiefersauer R, et al. Crystal structure of protoporphyrinogen IX oxidase: a key enzyme in haem and chlorophyll biosynthesis[J]. Embo Journal, 2014, 23 (8): 1720-1728.
- [14] Morris G M, Huey R, Lindstrom W, et al. AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility[J]. Journal of Computational Chemistry, 2010, 30 (16): 2785-2791.
- [15] 敖燕. 分子对接构象搜索优化策略与算法研究[D]. 成都: 电子科技大学, 2014.
- [16] 常珊,孔韧,李春华,等. 基于MPI的分子对接并行算法[J]. 计算物理, 2008, 25 (2): 241-246.
- [17] 刘长英. 基于改进遗传算法的分子对接优化设计[D]. 大连: 大连理工大学, 2012.
- [18] 褚意新,李玉贤,仝艳,等. 分子对接法预测丹皮酚及其2个异构体与 β -环糊精复合物结构[J]. 计算机与应用化学, 2014, 31 (7): 843-847.

责任编辑: 张爱婷