**硕士学位论文**

**密** **级**：公开 **中图分类号**：O621.1

**环状 Salen-金属配合物及其与 DNA 的相互**

**作用研究**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **学** 位 类 型 | ： | 学术型学位 |
| **学科（专业学位类别）** | ： | 化 学 |
| **作** 者 姓 名 | ： | 韩 冬 |
| **导 师 姓 名 及 职 称** | ： | 彭斌 教授 |
| **实践导师姓名及职称** | ： |  |
| **学** 院 名 称 | ： | 化学化工学院 |
| **论 文 提 交 日 期** | ： | 2014 年 5 月 27 日 |

**环状 Salen-金属配合物及其与 DNA 的相互**

**作用研究**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **学** 位 类 型 | ： | 学术型学位 |
| **学科（专业学位类别）** | ： | 化 学 |
| **作** 者 姓 名 | ： | 韩 冬 |
| **作** 者 学 号 | ： | 11010601013 |
| **导 师 姓 名 及 职 称** | ： | 彭斌 教授 |
| **实践导师姓名及职称** | ： |  |
| **学** 院 名 称 | ： | 化学化工学院 |
| **论 文 提 交 日 期** | ： | 2014 年 5 月 27 日 |
| **学 位 授 予 单 位** | ： | 湖南科技大学 |

**Interaction of cyclic Salen-metal complexes and DNA**

**Type of Degree**  Academic Degree **Discipline (Type of Professional Degree)**  Chemistry **Candidate**  Han Dong **Student Number**  11010601013 **Supervisor and Professional Title**  Prof. Peng Bin **Practice Mentor and Professional Title School**  School of Chemistry and Chemical Engineering **D a t e**  2014-5-27

**U n i v e r s i t y**  Hunan University of Science and Technology

摘**要**

本文通过2-羟基-1-萘甲醛、烷基二溴（1, 4-二溴丁烷，1, 5-二溴戊烷）及二胺类化合物（邻苯二胺、乙二胺、1, 3-丙二胺）合成了5个Salen配体，再将其与过渡金属Mn、Co，Cu，Zn反应合成了14个配合物。用红外光谱、高分辨质谱、核磁共振谱(1H NMR)、元素分析等方法对配体及配合物的进行了表征，并运用紫外吸收光谱滴定法、粘度法研究了醚链桥联环状Salen金属配合物与DNA的作用，运用荧光法研究了Salen金属配合物对DNA中碱基荧光作用的影响。工作内容如下：

1. 以2-羟基-1-萘甲醛分别与1, 4-二溴丁烷、1, 5-二溴戊烷合成2种对称双醚中间体，分别与1, 3-丙二胺反应生成2种醚链桥联环状Salen配体dnbp、dnpp，进而分别与醋酸锰、醋酸钴、醋酸铜及醋酸锌四种醋酸盐配位形成8个环状Salen金属配合物。

通过紫外光谱滴定和粘度测定发现：含过渡金属Mn、Co、Cu，Zn中心离子的配合物的紫外吸收光谱在加入DNA 溶液后均表现出减色现象，但含Cu，

Zn中心离子的配合物减色效应弱于含Mn、Co中心离子的配合物。DNA溶液的粘度增加与金属配合物的浓度呈现正相关性，Mn、Co中心离子的配合物对DNA粘度的增加均强于含Cu、Zn中心离子的配合物。8种配合物对DNA的作用都有插入作用特征。对于同种配体的配合物，作用强弱有L-Mn> L-Co> L-Cu> L-Zn，这可能与中心电子结构有关。对于同种中心离子不同配体作用强度有dnpp-M> dnbp-M，这可能与dnpp的柔性臂更长有关。与我们以前所合成的Salen金属配合物相比较，含Cu、Zn中心离子的环状Salen金属配合物表现出与DNA的插入作用特征，而之前所研究的金属Salen配合物则无此特征。

2. 通过荧光光谱法研究了Salen金属配合物与碱基的作用。结果发现：Salen金属配合物与碱基有明显作用，作用强度随着配合物和碱基的不同而变化；同一配合物对不同碱基的作用强度有：胞嘧啶>腺嘌呤>鸟嘌呤，此顺序不随金属和配体的不同而发生变化，说明配合物对碱基的作用呈现出一定的选择性；配体相同，而金属元素不同时，碱基猝灭常数不同，Mn配合物明显大于Co配合物，表明金属元素对配合物与碱基的作用影响较大。

关键词：Salen； 碱基； 荧光； 配合物； DNA

# i

**Abstract**

5 samples of Salen ligands and their coordination compounds with transition metals (Mn、Co, Cu, Zn) have been synthesized in this paper. Characterizations of

All the Salen ligands and coordination compounds were made by IR, HRMS, 1H NMR, EA, et al. The interactions between Salen metal comp lex which contain ether chain bridging loop and DNA have been studied by UV-Visible Spectroscopy and viscometric method. The influences of Salen metal complexes to the basic group in DNA have been researched by fluorescence method. Working description is a s

follows：

1. 2 kinds of symmetrical double ether intermediates were synthesized by 2 - hydroxy - 1 - naphthalene formaldehyde with 1, 4 - dibromobutane and 1, 5 - Dibromopentane respectively. Then react with 1, 3 - propylene amide to attain 2 kinds of Salen metal complex which contain ether chain bridging loop. Subsequently, 8 annular Salen metal complexes were attained by the reaction between Salen metal complexes and manganese acetate, cobalt acetate, copper acetate, zinc acetate.

The results attained by UV-Visible Spectroscopy and viscometric method show that the UV-Vis absorption spectrum presents hypochromicity when the complexes containing transition metal (Mn, Co, Cu, Zn were added in DNA, and the hypochromicity of complexes containing Cu or Zn is weaker than the complexes

Containing Mn、Co. The increase of DNA viscosity presents positive correlation with

The concentration of metal complexes. The increase of DNA viscosity by complexes containing Mn and Co is larger than complexes containing Cu and Zn. Trivalen t complexes and bivalent complexes have intercalation in DNA, for the same ligand the strength of intercalation show: L-Mn> L-Co> L-Cu> L-Zn. It may be influenced by the center ion valence state. For the same center ion, the strength of different ligands show: L1-M> L2-M, it may be connected with the longer flexible arm of L 1. Compared with the Salen metal complexes ever synthesized, the annular Salen metal complexes containing Cu and Zn present the intercalation with DNA, however the corresponding non-annular Salen metal complexes ever synthesized have no intercalation with DNA.

2. The influences of Salen metal complexes to the basic group in DNA have been researched by fluorescence method. The results show as follows: the effects between Salen metal complexes and the basic group exist obviously, and the effect strength change with the change of complexes and basic groups. The quenching

ii

Constants of Salen metal complexes with the same ligand show as this: The effect strength show as this: cytosine> adenine> guanine, this order doesn't change with the change of metal and ligands. That is to say there is selectivity of complexes to basic groups. That the quenching constants change with the same ligand and different metal indicate the metal have large role in th e influence of complexes to basic groups.

**KEy words: Salen; Base; Fluorescence; Complex; DNA**

iii

iv

目 录

[摘要](#_Toc686645342) 4

[i](#_Toc686645343) 4

**[Abstract](#_Toc686645344)** 4

[目 录](#_Toc686645345) 7

[第一章 绪论](#_Toc686645346) 8

**[1.1](#_Toc686645347)** [席夫碱及席夫碱配合物简介](#_Toc686645347) 8

**[1.2](#_Toc686645348)** [核酸、](#_Toc686645348)**[DNA](#_Toc686645348)**[及碱基简介](#_Toc686645348) 11

**[1.2.1](#_Toc686645349)** [核酸的组成与性质](#_Toc686645349) 11

**[1.2.2](#_Toc686645350)****[DNA](#_Toc686645350)**[的高级结构及特点](#_Toc686645350) 11

**[1.3](#_Toc686645351)****[DNA](#_Toc686645351)**[与小分子的结合方式](#_Toc686645351) 12

**[1.4](#_Toc686645352)** [配合物与](#_Toc686645352)**[DNA](#_Toc686645352)**[作用的研究](#_Toc686645352) 13

**[1.4.1](#_Toc686645353)** [光谱法](#_Toc686645353) 13

**[1.4.2](#_Toc686645354)** [流体力学方法](#_Toc686645354) 14

**[1.4.3](#_Toc686645355)** [电化学法](#_Toc686645355) 14

**[1.5](#_Toc686645356)****[Salen - Metal](#_Toc686645356)**[配合物与](#_Toc686645356)**[DNA](#_Toc686645356)**[的作用和研究](#_Toc686645356) 15

**[1.5.1](#_Toc686645357)****[Salen](#_Toc686645357)**[化合物的研究发展](#_Toc686645357) 15

**[1.5.2](#_Toc686645358)****[Salen](#_Toc686645358)**[的基本结构和合成方法](#_Toc686645358) 15

**[1.5.3](#_Toc686645359)****[Salen](#_Toc686645359)**[配合物与](#_Toc686645359)**[DNA](#_Toc686645359)**[的作用方式](#_Toc686645359) 15

**[1.6](#_Toc686645360)** [本文选题意义及内容](#_Toc686645360) 16

[参考文献](#_Toc686645361) 16

[第二章 四碳链双醚桥链环状](#_Toc686645362)**[Salen-](#_Toc686645362)**[金属配合物及其与](#_Toc686645362) 19

**[2.1](#_Toc686645363)** [引言](#_Toc686645363) 19

**[2.2](#_Toc686645364)** [实验仪器与试剂](#_Toc686645364) 19

**[2.3](#_Toc686645365)** [实验方法](#_Toc686645365) 21

**[2.3.1](#_Toc686645366)** [缓冲溶液的配制](#_Toc686645366) 21

**[2.3.2](#_Toc686645367)****[DNA](#_Toc686645367)**[溶液的配制](#_Toc686645367) 21

**[2.3.3](#_Toc686645368)** [紫外吸收光谱滴定](#_Toc686645368) 22

**[2.3.4](#_Toc686645369)****[DNA](#_Toc686645369)**[粘度测定实验](#_Toc686645369) 22

**[2.4](#_Toc686645370)** [配体及配合物的合成及表征](#_Toc686645370) 22

**[2.4.1](#_Toc686645371)** [配体](#_Toc686645371)**[dnbp](#_Toc686645371)**[的合成](#_Toc686645371) 22

**[2.4.2](#_Toc686645372)** [环状](#_Toc686645372)**[Salen](#_Toc686645372)**[配体的合成讨论](#_Toc686645372) 24

**[2.4.3](#_Toc686645373)** [配合物的合成](#_Toc686645373) 24

**[2.5](#_Toc686645374)** [配合物与](#_Toc686645374)**[DNA](#_Toc686645374)**[的相互作用研究](#_Toc686645374) 25

**[2.5.1](#_Toc686645375)** [紫外吸收光谱](#_Toc686645375) 25

**[2.5.2](#_Toc686645376)** [配合物与](#_Toc686645376)**[DNA](#_Toc686645376)**[相互作用的粘度研究](#_Toc686645376) 27

**[2.6](#_Toc686645377)** [本章小节](#_Toc686645377) 29

[参考文献](#_Toc686645378) 30

[第三章 五碳链双醚桥链环状](#_Toc686645379)**[Salen-](#_Toc686645379)**[金属配合物及其与](#_Toc686645379) 33

**[3.1](#_Toc686645380)** [引言](#_Toc686645380) 33

**[3.2](#_Toc686645381)** [实验部分](#_Toc686645381) 34

**[3.2.1](#_Toc686645382)** [实验试剂](#_Toc686645382) 34

**[3.2.2](#_Toc686645383)** [实验仪器](#_Toc686645383) 34

**[3.3](#_Toc686645384)** [实验方法](#_Toc686645384) 34

**[3.4](#_Toc686645385)** [配体及配合物的合成及表征](#_Toc686645385) 34

**[3.4.1](#_Toc686645386)** [配体](#_Toc686645386)**[dnpp](#_Toc686645386)**[的合成](#_Toc686645386) 34

**[3.4.2](#_Toc686645387)** [配合物的合成](#_Toc686645387) 35

**[3.5](#_Toc686645388)** [配合物与](#_Toc686645388)**[DNA](#_Toc686645388)**[的相互作用研究](#_Toc686645388) 36

**[3.5.1](#_Toc686645389)** [紫外吸收光谱](#_Toc686645389) 36

**[3.5.2](#_Toc686645390)** [配合物与](#_Toc686645390)**[DNA](#_Toc686645390)**[相互作用的粘度研究](#_Toc686645390) 38

**[3.6](#_Toc686645391)** [本章小结](#_Toc686645391) 40

[参考文献](#_Toc686645392) 40

[第四章](#_Toc686645393) **[Salen-](#_Toc686645393)**[金属配合物与](#_Toc686645393)**[DNA](#_Toc686645393)**[中碱基的相互作用](#_Toc686645393) 42

**[4.1](#_Toc686645394)** [引言](#_Toc686645394) 42

**[4.2](#_Toc686645395)** [实验仪器与试剂](#_Toc686645395) 43

**[4.3](#_Toc686645396)** [配合物的合成](#_Toc686645396) 43

**[4.4](#_Toc686645397)** [实验方法](#_Toc686645397) 45

**[4.5](#_Toc686645398)** [结果与讨论](#_Toc686645398) 46

[参考文献](#_Toc686645399) 53

[第五章 结论与展望](#_Toc686645400) 54

**[5.1](#_Toc686645401)** [结论](#_Toc686645401) 54

**[5.2](#_Toc686645402)** [展望](#_Toc686645402) 54

[附录](#_Toc686645403)**[A](#_Toc686645403)**[：攻读学位期间发表的学术论文](#_Toc686645403) 58

[附录](#_Toc686645404)**[B](#_Toc686645404)**[：部分谱图](#_Toc686645404) 60

# 第一章 绪论

## **1.1** 席夫碱及席夫碱配合物简介

席夫碱是含有亚胺基团的一类重要有机化合物。它是由含活泼醛羰基或酮羰基结构化合物与伯胺、醇胺、肼、氨基脲、氨基硫脲、等经过脱水缩合反应形成的一类化合物。自从1864年Hugo Schiff首先发现胺能和醛综合产生一种新物质，这类物质就以他的名字统一命名为席夫碱。

OH O

N

N

N

O

OH

CH3 OH

C

OH

HC N

HC H

C N OH

H

C

O OH

OH

(CH2) 3

N

O

N O

OH

HO N

CH

C N

H

R

(CH2) 5

COOH

OH

O

C H

OH N

O

H

N

C CH

H

COOH

H  N

HC N

N C NH2

R COOH N

图1.1 常见席夫碱化合物

Fig. 1.1 Several Schiff base compounds

按照含C=N键的数目又可分为单席夫碱、双席夫碱及大环类席夫碱[1]。其合成机理见图1.2

O-

R

R R OH

-H2O R

C O + H2NR''



R'

C

R' NH2R'' R'

C

NHR''

C NR''

R'

（R可为H、烷基、环己基、杂环、芳香基等）

图1.2 席夫碱的合成机理

Fig. 1.2 Formation mechanism of Schiff base

-1-

若R和R’为烷基，其供电子作用会使O原子上的负电荷增多，使其反应不容易进行；如果将R或R’更换为H原子则会降低供电子作用使反应易于发生；如果R或R’中含有芳香基，基吸电子作用会减少O原子上的负电荷且会形成共振结构使其更容易进行亲核加成反应。亲核试剂为伯胺类化合物R’’NH2，若R’’为供电子会使进攻基团-NH2R’’上负电荷增多而增强其碱性，有利于反应进行；如果R’’为吸电子基团，则会使进攻基团-NH2R’’中N原子电荷分散从而降低其碱性，使反应不易进行。

由于席夫碱的亚胺结构中的N有孤对电子结构，赋予它与众不同的意义。其孤对电子可以与大多数金属离子形成配位化合物，这些配合物在多种不同学科研究均具有着重要意义[2-10]。在药物研发方面，席夫碱具有良好的止疼、抗炎、杀菌性，且有不易产生耐药抗性，抗菌谱广等优点[11]。水杨醛类席夫碱还具有抗肿瘤作用[12]。在催化剂与稳定剂方面的应用，由于其结构特点，可以对某些缩聚反应有明显的催化作用[2]，且具有高效性和选择性。此外，甲亚胺可以屏蔽空气、氧、热及光诱导的变质反应，可以作为各种化合物的稳定剂[13]。

在生命科学方面，Co(III)席夫碱的的可逆载氧性质、结构与许多天然载体有着相似之处[14]，研究其性质与结构间的关系，对于探索血红蛋白等生物酶作用机制是有益的。在分析化学方面，可利用席夫碱的刚性平面和富电子等特点借助荧光分析、色谱分析等方法对某些离子进行定性或定量分析[15]。席夫碱用荧光

熄灭法测定金属离子[16]已有诸多应用。在物理应用方面，一些芳香族的席夫碱中，由于C=N键的存在加之-OH极易与铜形成稳定的配合物[17]，可提高金属的防腐作用。此外，近年来将席夫碱配合物用于DNA中作为荧光探针和分子标记[18]的研究也受到关注。





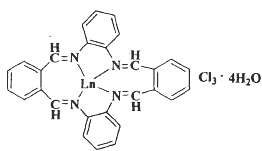




图1.3 常见的几种希夫碱配合物

Fig. 1.3 Several complexes of Schiff base

-2 -

## **1.2** 核酸、**DNA**及碱基简介

### **1.2.1** 核酸的组成与性质

核酸(mucleic acid)是由许多核苷酸聚而合成的生物大分子，是生命的必要元素。根据核酸水解后戊糖的不同可以将核酸大分子分为两类：脱氧核糖核酸

（DNA）和核糖核酸（RNA），在蛋白质表达过程中起着模板作用和储存作用，它在生物的生长、发育、繁殖和变异作用中起关键作用。研究核酸的作用机制，有助于人类从基因角度分析各种病变机理，尤其是癌症的产生及变异原因，从而研发出与之匹配的药物控制病性，达到治愈效果[19-21]。



核酸分子中含有C、N、O、H、P，还有个别含S元素。核酸是由核蛋白中的非蛋白部分水解而来：

RNA水解生成的戊糖为β-D-核糖(ribose)，DNA水解生成的戊糖为β-D-2脱氧核糖(deoxyribose)。

CH2OH OH CH2OH OH

O

H

H

H

H

O

H

H

H

H

OH OH OH H

β-D-核糖β-D-2脱氧核糖

### **1.2.2** **DNA**的高级结构及特点

一般用三级结构来描述DNA的结构特点。核酸的结构可分为一级结构和空间结构，一级结构是各核苷酸与核酸之间的连接及顺序情况，空间结构是由分子间的氢键和核苷酸间的键折叠而成，又可分为二级结构和三级结构。DNA的一级结构为：DNA由脱氧核苷酸以3’，5’-磷酸二酯键连接碱基构成的直线型或环型链多聚体。由四种脱氧核糖核苷酸构成，这几种脱氧核糖核苷酸又可分为解：含氮碱基、戊糖和磷酸根。DNA中的含氮碱基又可分为四种：腺嘌呤（A），胸腺嘧啶（T），胞嘧啶（C）和鸟嘌呤（G）。四种含氮碱基通过碱基互补法则[22-24]，即A=T、

-3-

C=G配对。嘌呤和嘧啶碱基都是近乎于平面的分子，存在于脱氧核糖核酸和核糖核酸中且均为杂环化合物，取代氨基以及嘌呤环的1位氮、嘧啶环的3位氮直接参与碱基配对。碱基的基本结构如图1.4

NH2

C H

N C

C C

O N H

O

H C CH3 N C

C C

O N H

H H

胞嘧啶C胸腺嘧啶T

O

H C N N C

H

C C

NH2 N N

H

NH2

C N

N C

C H

C C

H N N

H

鸟嘌呤G腺嘌呤A

图1.4 DNA中的含氮碱基

Fig. 1.4 The nitrogenous bases in DNA

DNA的二级结构是自詹姆斯・沃森与佛朗西斯・克里克在1953年提出DNA双螺旋（即B-DNA）后研究发展而来。从空间上看，DNA的二级结构还有A-DNA、B-DNA、C-DNA、D-DNA、Z-DNA等构型。其中B型为水结合型DNA，生物体内自然生成DNA中几乎都以B-DNA结构形式存在。B-DNA的构型有以下特征：

①反向平行双螺旋，符合右手规则。②四种含氮碱基位于双螺旋内侧，亲手性的磷酸和脱氧核糖在外侧，以3’，5’-磷酸二酯键连接构成DNA分子，具含氮碱基平面与中轴垂直[25]，脱氧核糖糖环平面与中轴平行。③其双螺旋结构中有两条

螺形沟，宽度为1.2 nm、深度为0.85 nm的沟称大沟，宽度为0.6 nm、深度为0.75

nm称小沟。其大沟小沟的结构对于DNA与蛋白质的相互识别非常重要。

DNA的三级结构是指DNA在双螺旋的基础上的进一步扭曲而来[26]，具有更紧密的结构。

-4 -

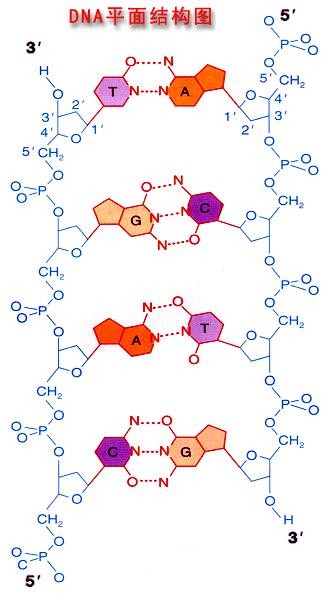


图1.5 DNA二级结构及大沟小沟示意图

Fig. 1.5 DNA secondary structure and diagram of the major groove or the minor groove

## **1.3** **DNA**与小分子的结合方式

非共价键结合主要包含三种方式：静电结合、沟面结合和嵌插结合[27]。范德华力、氢键、离子键和疏水键这四种弱相互作用力也会影响DNA与小分子的结合。配合物可以在沟内通过嵌插结合和沟面结合在DNA的螺旋中，加之DNA与配合物金属离子间的静电作用，可引起多种生物效应，也可与上述四种弱相互作用结合，影响核酸信息的传递与表达。

-5-



A B C

图1.6 非共价结合: A静电作用, B沟面结合, C插入作用

Fig. 1.6 Non-covalent binding: A electrostatic interactions, B groove binding, C intercalation

静电结合：是指靶向小分子通过静电相互作用与呈负电性的DNA双螺旋外部相结合，这种静电作用结合没有选择性[28]。核酸是一个带电的聚合电解质，作用于外层磷酸骨架[8]的磷酸根会DNA变为聚阴离子形式，呈负电性。多种金属配合物带有正电性，因此它们可能先在核酸外层形成静电结合，之后通过分子间力进一步发生其它相互作用的结合。这种非特异性结合在药物应用中较少。例如：带正电荷的（4-N-甲基吡啶基）卟啉(TMPyP)与DNA磷酸骨架间发生的静电作用，对使其与G-C碱基之间发生嵌插结合起非常重要的稳定作用。

沟面结合：DNA双螺旋结构中有两条螺形沟，有着大沟区和小沟区。小分子对核酸的大沟区或小沟区的碱基边缘作用即为沟面结合。蛋白质和寡聚核苷酸分子主要在大沟区发生作用，由于小分子空间体积小，一般在小沟区与DNA发生作用。一些非稠合的芳环结构分子通常在小沟与DNA结合，这类分子通过单键的旋转和扭曲后分子中的基团可以与碱基对形成氢键。小沟区中沟面结合通常发生在腺嘌呤（A）和胸腺嘧啶（T）富集的区域[29, 30]。因为A-T富集区比G-C富集区更窄，且负电荷密度较高，更利于有正电性的小分子进入小沟区。当配合物以沟面结合方式与DNA作用时，对DNA粘度改变不明显，以此用可以用粘度法判断配合物与DNA的作用方式。

嵌插结合：嵌插结合会造成DNA链的解链和伸长，这是发生嵌插结合的重要信号。当含有平面结构的芳香环系配体插入碱基对平面间，这就是碱基体系与芳环体系之间发生偶极-偶极相互作用及疏水作用的结果。当小分子嵌入DNA碱基对与之发生嵌插作用后，可能影响DNA转录及复制，甚至可以断裂DNA分

-6 -

子。对药物以嵌插方式的影响因素的理论有两级互补理论[31]。其存在的影响因素[32]有：①DNA的结构。②化合物的形状。③插入基团。④取代基的差异。⑤辅助配体的影响。

## **1.4** 配合物与**DNA**作用的研究

### **1.4.1** 光谱法

通常DNA与配合物与结合后会引起其配位环境发生变化，可通过紫外吸收光谱、发射光谱等光谱变化情况得出反映。

①紫外可见光谱法：DNA分子中的碱基和磷酸在紫外可见光谱下会有发色效应。其在260nm左右处的电子吸收光谱有强吸收峰[33, 34]，由于某起小分子自身具有光学活性或与脱氧核糖核酸结合后激发光学活性，因此可根据紫外可见光谱数据观察DNA与小分子结合前后结构上的变化研究其结合机理。是目前研DNA与小分子发生结合作用广泛采用的研究方法。某些金属配合物小分子也会产生特征吸收峰，可根据它们与DNA作用前后紫外吸收谱带发生的变化对其相互作用进行定性分析。

②荧光光谱法：可利用荧光光谱法研究具有荧光特性化合物的荧光强度，

DNA与某些金属配合物发生相互作用时，会使DNA的荧光光谱发生变化。因此可以根据DNA与配合物作用前后的荧光强度变化来判断它们的相互作用方式。很多无荧光或荧光强度比较低的小分子配合物与DNA发生嵌插时，会增加配合物荧光强度或增长其荧光寿命。荧光光谱法还可以借助荧光探针嗅化乙锭(EB)、二氨基亚啶、亚啶橙等配合物小分子与DNA的作用模式进行判断。其中嗅化乙锭是是应用范围最广的荧光探针，广泛应用于与DNA相互作用的研究[35-37]。当小分子与DNA进行沟面结合作用，会使其荧光强度大幅降低。当小分子以嵌插模式插入到碱基中，其位阻效应会使其荧光偏振相应变大，而静电作用和沟面结合作用则不会引起荧光偏振的增大[38]。

H2N

N+

NH2

Br-

Ph Et

图1.7 溴化乙锭的分子结构图

Fig. 1.7 Molecular of ethidium bromide

-7-

③圆二色光谱法(CD)和线二色光谱法(LD)

圆二色光谱法(CD)：指的是以高频率变换的左旋或右旋偏振光作为入射光，可以为有机化合物的绝对构型和构象以及反应机理提供可供参考的有利的信息，可检测到生物大分子构象产生变化的过程。同时圆二色谱可以作为敏感的DNA螺旋构象指示剂，通过圆二色谱可检测到与DNA作用的小分子中的基团跃迁所引起的谱带变化，从而可以推测出二者所采用的结合方式的信息。另外可以根据

DNA在260 nm处的吸收峰来判断DNA的结构信息；还可以对一些本身并没有CD信号的分子，通过其与DNA结合之后诱导所产生CD信号的分子，从而间接分析其结构信息。

线二色光谱法(LD)：指的是用和光轴方向垂直或平等的平面偏振光，测量小分子与DNA结合之后，其垂直和平行于DNA的偏振光的吸收情况（二色性），可判断小分子与DNA的结合情况，是判定小分子与DNA发生嵌插结合、沟面结合、静电结合及其它结合方式的快速有效方式。还能快速获取小分子与DNA螺旋上结合的准确方向信息、动力学数据等信息。

### **1.4.2** 流体力学方法

在研究配合物是否与DNA发生键合作用，流体力学方法有着独特优势。用粘度法、凝胶电泳等方法研究配合物与DNA的作用模式更为精确、有效[39]。

①粘度法：确定小分子化合物与DNA作用模式。当含有芳环的小分子化合物或配合物通过插入方式到DNA时，会使DNA伸长，使得DNA溶液粘度增加。可以利用粘度法在没有晶体结构资料的情况下方便地观察出配合物与DNA是否发生插入作用结合的最常用的途径[40]。当以有些含平面芳环小分子或小分子配合物片段插入方式进入DNA碱基对时，会导致DNA双螺旋链的扭结，降低DNA溶液的粘度[39]。如果化合物以沟面结合或者静电结合方式作用于DNA的话，

DNA溶液粘度并不会发生明显的变化[41]。因此可根据粘度数据判断小分子与

DNA作用产生的不同结合方式。

②凝胶电泳：采用物理学手段研究生物学中DNA与其它分子的相互作用最基本的两种手段为序列凝胶电泳和足印迹分析技术[42]。凝胶电泳可以记录DNA剪切或者其它分子与DNA螺旋采用共价键结合所留下的―痕迹‖，从而可以研究分子与DNA发生作用的序列特异性问题。进行凝胶电泳实验中可使用三种DNA：质粒DNA、单链环型DNA和线性双链DNA。根据凝胶中DNA的位置，可分析DNA分子构象，测定片断分子量及确定DNA分子的种类。

-8 -



图1.8 琼脂糖的凝胶电泳图

Fig. 1.8 Agarose gel electrophoresis

凝胶电泳中DNA与其它分子作用下的损伤情况如图1.9所示：质粒DNA、单链环型DNA及线形双链DNA都可被其它分子经切割成线形，之后进一步损伤成为碎片。



图1.9 DNA损伤结构

Fig. 1.9 Illustration of DNA damage

### **1.4.3** 电化学法

电化学法是利用电能与化学能之间的相互转化规律使分子之间的相互结合信息，包括电位分析、电导分析、循环伏安法、库伦分析等。由于无法精确测得分子间的相互作用力，使得电化学分析常用做分子间作用力的定性研究方法。

由于DNA分子具有电活性，故而可以用电化学方法进行研究。DNA分子的电活性主要是由碱基引起的。其氧化位点主要在鸟嘌呤的C-8位和腺嘧啶的C-2位；还原位点主要是鸟嘌呤的N-7位、腺嘧啶的N-1位及胞嘧啶的N-3位。采用电化学法DNA与其它分子的相互作用，由于某些分子吸收光谱难以观察或是其跃迁谱带与重叠干扰，无法用光谱法测定时，可用采用循环伏安法方便地进行直接或间接测定和研究[43-45]。故电化学法是研究配合物与DNA相互作用方式的有效途径，是光谱实验的有效补充[46]。

某些配合物分子与DNA相互作用后，配合物的氧化还原特征电流会下降，相应峰电位也发生移动。用循环伏安法可方便观察出DNA分子是否与活性小分子通过静电作用结合。1987年，Bard等人通过采用循环伏安法研究了Co（Ⅲ）配合

-9-

物与DNA相互作用的电化学行为，Bard认为当小分子与DNA发生相互作用时，如果半波电位E1/2向负方向移动，说明配合物与DNA之间存在静电作用；若半波电位E1/2向正方向偏移，说明该配合物与DNA存在嵌插作用[47]。通过配合物配位

金属的峰电流和峰电位可计算DNA与配合物的表观结合常数及结合位点[48, 49] 。

通过DNA修饰电极发展而来的表面电化学法[50]，具有DNA消耗量少、操作简单、参数易保存等优点。

## **1.5** **Salen - Metal**配合物与**DNA**的作用和研究

### **1.5.1** **Salen**化合物的研究发展

Salen是配体N, N'-bis(salicylidene) ethylenediamine的简写[51]，自从1889年

Combes合成第一个N2O2型双席夫碱化合物，便是所谓的Salen。此后这此类化合物的研究渐渐开展了起来。Salen配体有着与多吡啶、卟啉类配体类似的相对刚性平面和四配位的配位环境，在Salen上改变不同的基团，可以明显引起Salen配合物的结构和电化学性质的改变。这使得Salen配合物具有多种不同性质[51, 52]。如刘艳华[53]等以Salen-Mn配合物做为催化剂使苯乙烯的转化率达到98.3%。何乐芹[54]通过合成SalenMn配合物催化空气NaOcl不对称环氧化乙烯反应。近些年来，以Salen做为手性不对称反应中识别骨架有着独特的优势，其可通过各种手性二胺合成手性骨架，形成可控的空间位点和立体大小，并且通过中心金属离子配位可改变识别位点间的距离。如彭斌[55]等人通过合成手性Salen-Mn配合物发现它们与DNA作用时，不仅有空间选择性，还有手性选择性。Salen配体还可以与元素周期表中大多数过渡金属形成稳定的化合物，通过改变中心离子种类可以拓宽Salen-金属配合物的用途。

### **1.5.2** **Salen**的基本结构和合成方法

与DNA发生作用且含有平面的Salen的基本结构可用下图1.10表示：(n=0, 1, 2, 3)

R1 R2

(CH2) n

N N

OH

R3

HO R4

图1.10 Salen基本结构示意图

Fig. 1.1 0 Schematic diagram of the basic structure of Salen

-10 -

R1，R2，R3，R4可以是不同的基团，R3，R4可以再连接一个苯环形成萘环，

R1，R2也可以是笨环或其它环状烷烃。

N N

N HO

N

HO

OH

OH

N N

OH

N

N

OH

HO

HO

Cl

图1.11 一些Salen的结构示意图

Figreul 1.11 Some Salen Schematic

Salen的合成与席夫碱的合成类似，合成方法较简单，将要合成的醛与目标二胺按摩尔比为2: 1在醇类、CH3Cl3、DMF、丙酮溶液中缩合而成；若反应物都为固态，则可用固态粉末研磨法合成制取。再用重结晶方法或硅胶柱层析法提纯，亦可置于不易挥发的溶剂中静置结晶。

### **1.5.3** **Salen**配合物与**DNA**的作用方式

大多数以水杨醛为基本骨架的Salen配合物与DNA的相互作用为沟面结合，通过本课题组[56, 57]实验研究发现增大芳基平面结构时，相应Salen配合物与

DNA可以为插入模式结合，如图1.12

N Mn N O O

CH3COO

图1.12 Salen-金属配合物示意图

Fig. 1.12 Salen-metal complexes schematic

Salen-金属配合物断裂DNA的方式：

①直接氧化断DNA链：糖环反应，某些Salen-金属配合物与DNA结合可通过诱导核糖环上C3’氢原子脱落，促使DNA链发生断裂。

-11-

②与DNA上的碱基发生氧化反应：在有光照或是还原剂存在的情况下，Salen

金属配合物可以进攻DNA的碱基，引发消除反应，促使DNA链发生断裂。

③水解反应：Salen金属配合物具有lewis酸的功能，可活化P=O键，使其易于发生断裂。其还可以促使P=O键产生能够对磷酸二酯键水解能够发挥积极作用的磷酸酯中间体。

此外，近年还有研究发现，将某些Salen-金属配合物以共价嵌接到DNA中，可以实现对DNA稳定作用[58]。

## **1.6** 本文选题意义及内容

DNA是生物体的重要组成部分。自从Watson和Crick提出DNA的双螺旋结构并对其复制机制在分子水平上进行解释后，对DNA的研究不断深入。研究金属配合物与DNA的键合机理与作用规律有助于阐明DNA的结构与功能的关系。

Salen化合物的研究由来已久，其研究涉及无机、有机、生物化学、催化化学等多个领域，Salen配体有着与多吡啶、卟啉类配体类似的相对刚性平面和四配位的配位环境，在Salen上改变不同的基团，可以明显引起Salen配合物的结构和电化学性质的改变。Salen配体还可以与元素周期表中大多数过渡金属形成稳定的化合物，通过改变中心离子种类可以拓宽Salen-金属配合物的用途。

本课题组之前发现结构中含萘环的Salen-金属配合物可以插入DNA键中，产生较强的作用。作用的强弱与配合物中的金属种类与配体的结构有关。基于以上分析，提出通过2-羟基-1-萘甲醛与1, 4-二溴丁烷及1, 5-二溴戊烷合成双醚化合物，再通过席夫碱反应与1, 3-丙二胺反应合成环状Salen配体的设想。进一步扩大分子的刚性共平面，并加入柔性臂连接形成醚桥链对称环状Salen配体。再用醋酸锰、醋酸钴、醋酸铜和醋酸锌4种金属醋酸盐与之配位合成了8种环状Salen-金属配合物。

运用紫外吸收吸收光谱法和粘度法研究与DNA的相互作用。探究DNA分子与带正电荷的环状Salen-金属配合物的相互作用，进一步拓展了Salen-金属配合物的研究范围，为以后的相关工作奠定基础。

这些配合物作用于DNA时，能否与DNA中的碱基作用？对不同的碱基作用是否不同？通过改变配体结构能否获得性能更好的DNA插入试剂？探讨这些问题对于进一步研究配合物与DNA的作用机制，开发新型DNA的结构探针以及探寻DNA是否错配等是非常有益的。本文用荧光法研究了8种Salen-金属配合物与碱基的作用，探究不同结构的配合物对碱基荧光强度的影响。

-12 -

参考文献

[1] Sundquist W I, Bancroft D P, Lippard S J. Synthesis, charaeterization, and biological activity of cis-diamine platinum(Ⅱ) complexes of the DNA intercalators 9 -aminoacridine and chloroqine [J]. Am. Chem. Soc, 1990, 112: 1590-1596.

[2]毕思玮， 刘树祥， 氨基酸水杨醛席夫碱与铜（Ⅱ）配合物的合成及其抗菌活性和稳定性、结构间的关系

[J]. 无机化学学报,1996, 12(4), 423 -426.

[3]孙文梦， 手性Schiff base稀土配合物的合成及其在催化中的应用[D]. 浙江大学学位论文, 2005。

[4]范玉华，毕彩丰，李金英，2-羟基-1-萘醛缩-4-氨基安替比林与钆（Ⅲ）配合物的合成、表征及热分解动力学[J]. 核化学与放射学, 2004, 25(1), 56-60.

[5]梅慧. 双水杨醛缩二胺类希夫碱Co（Ⅱ）配合物催化选择氧化还原羰化合成N，N′-二苯基脲研究[D].

华中科技大学, 2006。

[6] Aliakbar Dehno Khalaji, Sepideh Maghsodlou Rad, Gholamhossein Grivani, Debasis Das Nickel(Ⅱ) and copper(Ⅱ) complexes with an asymmetric bidentate Schiff -base ligand derived from furfurylamine [J]. Therm Anal Calorim, 2010. 1024-1028.

[7]张秀英，张有娟，李青。我国Schiff碱稀土配合物的研究进展[J]. 化学研究与应用. 2002, 01: 0009-0014.

[8]蔡丽华，杜小兰，张治民. 含吡啶酰胺基双Schiff碱的稀土金属配合物的合成[J]. 武汉大学学报（理学版）。2009, 05: 0517-0520.

[9]王荣民，王云普，李树本. 高分子担载希夫碱金属配合物的制备与性能[J]. 高分子通报, 1998, 1: 33-39.

[10] Hashihayata T, Yoshio I, Katsuki T. The first asymmetric epoxidation using a combination of achiral(Salen) manganese(Ⅲ) complex and chiral amine [J]. Tetrahedron, 1997, 53(28): 9 541 -9 552.

[11]李付安，李建定，陶偌偈. 两种异金属链状配位聚合物的合成和晶体结构[J]. 化学学报. 2008, 66(7)：762-768.

[12] Tao R J, Mei C Z, Zang S Q. Synthesis, characterization, crystal structures and magnetic properties of dissymmetrical double schiff base heterotrinuclear complexes: [CuL(H2 O) CoCuL]•H2O•CH3 OH and [(CuL) 2 Ni] •2H2 O [J]. Inorganica Chimica Acta, 2004, 357: 1985-1990.

[13] D N Dhar, C L Taploo. Schiff bases and their applications [J]. Scient. Ind. Res., 1982, 41:501 -506.

[14]韩志坚，周洪. 钴希夫碱配合物的合成及其氧合机制的研究[J]. 无机化学学报, 1992, 8(4): 421 -424. [15] Asuero A G. Schiff bases derived from b iacetyl as analytical reagents [J]. Microchem. 1981, 26(4):

527-545.

[16]杨志斌，范洪. 新希夫碱的分析应用研究：BPDIB荧光熄灭法测定水中微量铬（Ⅵ）[J]. 分析测试学报, 1995, 14(1)：29 -32.

[17] Li S L, Chen S H, Lei S B, et al. Investigation on some Schiff bases as Hch c orrosion inhibitors for copper [J]. Cormsion Science, 1999, 42: 1273 -1287.

-13-

[18] Hawkins Mary E, Pfleiderer, Wolfgang, Jungmann Oliver, et al. Synthesis and Fluorescence characterization of pteridine adenosine nucleoside analogs for DNA incorporation[J]. Analytical Biochernistry, 2001, 298(2): 231-24.

[19]计亮年， 张黔玲， 巢晖. 多吡啶配合物在大分子DNA中的功能及其应用前景[J]. 科学通报. 2001，

46(6), 451-460.

[20] Enzo A, Angela B, k Elisabetta I. International conference on D NA conformation, modification and recognition in Biomedcine [J]. Brno Czech Republic. 2000, 1: 72-73.

[21] Gibbons S, Fallah F, Wright CW. Cryptoleping hydrochloride: a potent antimycobacterial alkaloid derived from Cryptolepis sanguinolenta [J]. Phtother Res. 2003, 17(4): 434 -436.

[22] A. M. Maxam, W. Gilbert. A New Method for Sequencing DNA [J]. Proc. Natl. Acids. Sci. USA., 1977, 74, 560-564.

[23] A. Ahmed, Use of transposon -promoted deletions in DNA sequence analysis [ J]. Mol. Biol., 1984, 178, 941-948.

[24] R. E. Dickerson, The helix and how it is read [J]. Sci. Amer., 1983, 249, 94-111.

[25] J. D. Watson, F. H. C. Cri ck, Genetical implications of the structure of deoxyribonucleic acid [J]. Nature, 1953, 171, 964-967.

[26] J. Darnell et al., Molecular cell biology [J]. Scientific American Books, New York, 1986, 383-395.

[27] Kumar C. V, Asuncion E. H. DNA binding studies and site selective fluorescence sensitization of an authryl probe [J]. Am. Chem. Soc., 1993, 115: 8547 -4553.

[28] Susanne K, Michael A, Jakupec, et al. The heterocyclic ruthenium (Ⅲ) complex KP1019(FFC14A) causes

DNA damage and oxidative s tress in colorectal tumor cells [J]. Cancer letters, 2005, 226(2): 115 -121. [29] Oliverira M C B, Couto MS, Severino PC, et al. Nucleic acid cleavage by a Cu (Ⅱ) polyaza macrocyclic

Complex [J]. Polyhedron, 2005, 24(4): 495-199.

[30] 沈同， 王镜岩. 生物化学（第二版）[M]. 高等教育出版社, 1990. 54-68.

[31] 杨频， 郭茂林. 金属抗癌剂研究进展与两级互补理论[J]. 化学通报, 1996, 59(l): 6- 11.

[32] 张立金， 贾蔡威. 乙霉威和百克威与DNA的相互作用[D]. 中国农业大学硕士学位论文, 2004。

[33] Bing W J, Man H Z, Tao S. [Ruthenium(II)(bpy) 2 L] 2+, where L are imidazo[f] -1, 10-phenanthrolines: synthesis photophysics and binding with DNA [J]. Spectrochimica Acta (Part A), 2004, 60: 2635~2641.

[34] 凌连生， 杨洗， 何治柯， 等. Ru(bipy) 2 (dppz) 2+ 与DNA相互作用的光谱研究[J]. 分析科学学报, 2001,

17(L): 11-15.

[35] Jin L, Yang P, Li Q S. Studies on the mechanism of the chiral metal complexes with DNA by fluorimetry method[J]. Chem. Chin. Univ., 1996, 17(9): 1345-1348.

[36]孙雪光， 曹恩华， 秦静芬， 等. 双链、三链、四链DNA与嗅乙锭相互作用的荧光研究[J]. 中国科学（B

辑）, 1995, 25(6): 554-560.

[37]韩大雄， 杨频. 分子模拟手性金属配合物-Co[(phen) 2dppz] 3+与B-DNA的作用模型[J]. 中国科学(B

辑）, 2000, 30(5): 392-395.

-14 -

[38]叶勇，胡继明，曾云鹦. 抗癌金属络合物与脱氧核糖核酸作用的谱学研究比较[J]. 分析化学研究报告, 2000, 8(7)：795-504.

[39] Satyanarayana S., Dabrowiak J. C., Chaires J. B. [J]. Biochemistry, 1993,32 2573

[40] Sigma D S, Mazumder A, Perrin D M. A chemical nuclease [J]. Chem. Rev. 1993, 93(6): 229-2316. [41] Liu J. G, Ye B. H., Li H. [J]. Inorg. Biochem., 1999,76, 265.

[42] 吕冬梅 ， 闵吉梅, 张礼和. 药物 -DNA 相互作用的序列特异性的研究进展[J]. 国外医学药学分册，

1998, 25(2): 65-71.

[43] 罗济文， 张敏， 张蓉， 等. 抗癌药物的电化学研究（Ⅱ ）道诺霉素在DNA修饰石磨粉末微电极上的电化学行为及分析应用[J]. 分析科学学报, 2002, 18(l): 1-5.

[44] Lu Q, Pang D W, Hu S, et al. DNA-modified electrodes( Ⅶ) -preparation and characterization of DNA-bonded and DNA-absord SAM/Au electrodes [J]. Scinece in China(Series B), 1999, 42(4): 425-32.

[45] Xu X H, Bard A J. Immobilization and hybridization of DNA on an aluminm (Ⅲ) alkanebisphosphonate thin-film with electrogenatated chemiluminescent detection [J]. Am Chem. Soc., 1995, 117(9): 2627-2671.

[46] K. Gisselfalt, P. Lincoin, B. Norden, M. Jonsson. Interactions of Tris(phenanthroline) ruthenium(II) Enantiomers with DNA: Effects on Helix Flexibility Studied by the Electrophoretic Behavior of Reptating DNA in Agarose Gel [J]. Phys. Chem. B 2000, 104, 3651 -3659.

[47] Carter M T, Rodriguez M, Bard A J. Voltammetric studies of the interaction of metal chelates with DNA Tris-Chelated complexes of cobalt (Ⅲ) and iron(Ⅱ) with 1,10-phenanthroline and 2,2'-bipyridine [J]. Am. Chem. Soc., 1989, 111 (24): 8901 - 891.

[48] Song Y M, Kang J W, Wang Z H. Study on the interactions between CuL2 and Morin with DNA [J]. Inorg.

Biochem. 2002, 91, 470 -474.

[49]林辉祥，李志良，毕琼斯，俞汝勤. 14种钯抗癌络合物初步筛选的荧光法研究[J]. 中国科学(B), 1992, 7, 730-735.

[50]冶保献，木合塔尔・吐尔洪，曲松. 抗癌药物6-羟基嘌呤与DNA相互作用的电化学研究[J]. 分析科学学报, 2004, 20(4)：364-366.

[51] Zhang W, Loebach J L, Wilson S R, Jacobsen E N. Enantioselective epoxidation of unfunctionalized olefins catalyzed by salen manganese complexes [J]. Am. Chem. Soc. 1990, 112: 2801–2803.

[52] Chihaya A, Marc A B, Stephen R F. High-efficiency red electrophosphorescence devices [J]. IEEE Trans.

On Electron Devices., 1997, 1228.

[53]刘艳华，赵继全，焦永杰等. Salen-Mn配合物催化空气环氧化烯烃反应[J]. 石油化工, 2004, 32(9): 816-818.

[54]何乐芹，赵继全，张雅然. 手性Salen Mn(III)配合物催化NaOCl不对称环氧化苯乙烯反应[J]. 应用化学, 2006, 23(6): 689-690.

[55]彭斌， 周文辉， 谭凤娇， 刘汉文. 基于水杨醛的手性Salen-Mn（Ⅲ）配合物与DNA的相互作用研究[J].

湖南科技大学学报（自然科学版）, 2008, 23(2): 100-103.

-15-

[56]彭斌， 刘晓林， 仇明华， 等. 含萘环结构Salen- Mn（Ⅲ）和Salen-Co（Ⅲ）配合物与DNA的相互作用研究

[J]. 湖南科技大学学报（自然科学版）, 2010, 25(1): 98 -101.

[57] Peng B, Zhou W H, Yan L, Liu H W, Zhu L. DNA -Binding and cleavage studies of chiral Mn (Ⅲ) salen complexes [J]. Transition Met Chem, 2009, 34: 231-237.

[58] Clever G. H., Polborn K., Carell T., Angew. A Highly DNA-Duplex-Stabilizing Metal–Salen Base Pair [J]. Chem. Int. Ed., 2005, 44, 7204 -7208.

-16 -

# 第二章 四碳链双醚桥链环状**Salen-**金属配合物及其与

**DNA的相互作用**

## **2.1** 引言

二十世纪六十年代，Pedersen发现了冠醚化合物，并发现冠醚存在的空腔可以容纳一个金属离子[1]，此后关于此类化合物的报道及应用也越来越多，并开启了超分子化学的新纪元。1970年Robson和Pilkington等[2]人合成了大环席夫碱配合物并进行了一系列的光学、磁性、导电性及与与离子配合形成的立体结构进行了全面的分析。此后，关于环状配体化合物的研究取得了很多成果[3-9]，这类化合物在分离、催化、光学、超分子化学及医药等方面的应用前景有着不可估量的意义。特别是在生物医药[10-12]方面，当金属离子与氮、氧原子进行配位时，其结构与构成生命体普遍存在的叶绿素、血红素等非常相似，对环状席夫碱类配合物研究在人工模拟合成生命物质方面[13-15]是有意义的。含有冠醚基团的席夫碱化合物作为一类重要的合成中间体，不仅可以作为识别主体，而且因为其本身具有良好的四配位环境，可提供很好的配位识别作用[16-18]。

环状席夫碱的合成及功能的研究已有报道[19-20]，但其与DNA的相互作用研究还尚不多见。

张铭钦[21]等人以水杨醛、烷基二溴、邻苯二胺为原料合成了醚链大环席夫碱配体及Zn（Ⅱ）配合物，研究发现配合物在紫外可见光谱下253nm和297nm吸收峰发生→\*跃迁，说明酚基氧参与了配位。王银平[22]等人通过合成Ho（Ⅲ）希夫碱大环配合物，发现该配合物对质粒DNA pBR332表现出切割活性，提供了人工核酸酶切割新的思路。

本章所研究的环状Salen配体是含有双醚桥联的冠醚型环状双席夫碱的化合物。其具有多配位点及空腔，使其过渡金属配合物具有特殊的稳定性。研究其性质及与DNA的作用对开展人工模拟合成药物方面有积极意义。应用共轭性刚性平面较大的2-羟基-1-萘甲醛，1,4-二溴丁烷合成对称双醚型二醛化合物，再与1,3-丙二胺进行席夫碱缩合反应合成环状Salen配体。与四种过渡金属醋酸盐（醋酸锰、醋酸钴、醋酸锌、醋酸铜）合成环状Salen-金属配合物。此类醚链桥联环状Salen配体及合成结构研究尚未见文献报道。本章合成了上述环状Salen配体及其相应4种环状Salen配合物，并用紫外可见光谱法及粘度分析法研究了其与DNA的相互作用。

-17-

## **2.2** 实验仪器与试剂

表2.1 实验仪器及厂家

Tab2.1 experimental instrument and manufacturer

| 仪器及其型号 | 生产商 |
| --- | --- |
| 旋转蒸发器(RE-5285A) | 上海亚荣生化仪器厂 |
| 循环水真空泵(SHZ-D(III)型) | 巩义市英峪予仪器厂 |
| 真干燥箱空(DZ-2BC型) | 天津泰斯特仪器有限公司 |
| 集热式恒温磁力搅拌器 | 浙江省乐清市乐成仪器厂 |
| 电子天平(BS224S) | 北京赛多利斯仪器有限公司 |
| 傅立叶红外光谱仪(Nicolet | 美国Thermo Fisher公司 |
| 元素分析仪(Perkin-Elmer | 美国铂金埃默仪器公司 |
| 四级杆-飞行时间质谱仪 | 美国Waters公司 |

表2.2 实验试剂概况

Tab2.2 experimental reagents profiles

| 试剂 | 纯度 | 厂家 |
| --- | --- | --- |
| 2-羟基-1-萘甲醛 | 分析纯 | 萨恩化学技术有限公司 |
| 乙二胺 | 分析纯 | 长沙分路口塑料化工厂 |
| 1,3-丙二胺 | 分析纯 | 广州化学试剂厂 |
| 1,5-二溴戊烷 | 分析纯 | FLUKA公司 |
| 氯化钠 | 分析纯 | 湘中地质研究所 |
| 无水乙醇 | 分析纯 | 广东汕头西陇化工厂 |
| 小牛胸腺DNA | 生物试剂 | 华美生物工程公司 |
| Tris | 分析纯 | sigma公司 |
| 醋酸锰 | 分析纯 | 昆明贵金属研究所 |
| 醋酸钴 | 分析纯 | 昆明贵金属研究所 |
| 醋酸铜 | 分析纯 | 昆明贵金属研究所 |
| 醋酸锌 | 分析纯 | 昆明贵金属研究所 |
| 盐酸 | 分析纯 | 广东汕头西陇化工厂 |

-18 -

## **2.3** 实验方法

### **2.3.1** 缓冲溶液的配制

在进行粘度法、紫外可见光谱、荧光光谱时，DNA溶液和配合物溶液均用缓冲液配制。缓冲液须使用二次蒸馏水配制。配制含有5 mmolL-1 Tris和50 mmolL-1 NaCl溶液，并用HCl调节至pH＝7.2。当某些配合物难溶于水时，可先用

DMF或DMSO溶解后（不超过总体积的10%）以缓冲液稀释。

### **2.3.2** **DNA**溶液的配制

将适量小牛胸腺DNA置于缓冲液搅拌均匀后放入4℃冰箱静置24小时后取出用砂芯漏斗抽滤，取少量溶液稀释100倍左右。用紫外可见光谱仪测量稀释后的DNA溶液在260 nm和280 nm处的吸光度，若A260/A280=1.8～1.9之间，说明此

DNA溶液基本不含蛋白质，不需要再进一步处理[23]。根据DNA在260 nm处的摩

尔吸光系数为6600 mol-1 L×cm-1及比尔—朗伯定律确定DNA的浓度[24]，一般稀释到吸光度A＝0.5～1.0之间使用。配制好的DNA溶液须放在4℃下保存（7天内使用）。

配合物溶液采用直接称量法，用缓冲液配制。

### **2.3.3** 紫外吸收光谱滴定

在紫外可见光谱仪中，在样品池中放入浓度为10μmol·L- 1的配合物溶液2.5

mL，在池中加入同样体积的缓冲溶液，设定吸收波长范围为200-700nm 范围首先确定吸收波长范围为260～700nm，再向参比池中加入2.5 mL缓冲溶液，

样品池中则加入同体积的浓度为10μmol·L-1的配合物溶液，校准基准曲线，用微量加样器每次向参比池和样品中分别加入5μL的DNA溶液，混合均匀，5min之后测量，再次加入使DNA与配合物*CDNA/C配合物*比值升高，直至吸收峰不再减色为止。

### **2.3.4** **DNA**粘度测定实验

将超级恒温水浴缸保持温度为28.0(±0.1)℃。首先在6只容量瓶中分别加入已知浓度的DNA，再阶梯增加配合物与DNA的浓度比配制成待测试液，于4℃温度下静置24小时。以*(η/η0) 1/3*为纵坐标，以*C配合物/CDNA*表示配合物质的量浓度（单位mol·L - 1,下同），*C配合物/CDNA*为横坐标做图。按*η=(t-t0) /t0*计算相对粘度，η*0*表示DNA

-19-

溶液的相对粘度，*t*表示DNA与配合物混合溶液流经毛细管所用的时间，*t0*表示为缓冲液流经毛细管所用的时间。

## **2.4** 配体及配合物的合成及表征

### **2.4.1** 配体**dnbp**的合成

CHO

2

OH + Br

Br 65℃DMF K2CO3, KI

CHO

O

O

(CH2) 4

CHO

图2.1 An1的合成路线

Fig. 2.1 The synthetic route An1

四碳链醚链桥联二醛An1的合成：在100 mL三颈烧瓶中加入3.45g(20 mmol) 2-羟基-1-萘甲醛，1.38 g(10 mmol) 无水K2CO3, 1.66 g(10 mmol) KI. 并以10 mL

DMF溶解，在70℃水浴下搅拌。再以恒压8秒每滴速度滴加溶有1,4-二溴丁烷2.3g(10 mmol)的DMF溶液4 mL。反应2 h，冷却后将反应混合液倒入冰水中，抽滤，用水洗3次，乙醇洗3次。所得固体用DMF重结晶，真空干燥后得白色晶体。产率62%。元素分析：C, 78.28(78.37); H, 5.69(5.57); O, 16.05(16.06). ES-MS:

M/z=399.4(M+1). IR(KBr, v/cm-1): 1152(-CH2); 1267(C-O); 2870(-CHO).1H NMR (500 MHz, CDCl3)δ 10.92 (d, *J* = 11.6 Hz, 1H), 9.24 (t, *J* = 10.1 Hz, 1H), 8.04 (d, *J*

= 9.2 Hz, 2H), 7.75 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.63 – 7.57 (m, 1H), 7.41 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H),

7.27 (d, *J* = 9.3 Hz, 1H), 4.36 – 4.23 (m, 3H), 2.16 (s, 2H).

-20 -







图2.2 An1的1H NMR

Fig. 2.2 1H NMR spectrum of An1

在An1的1H NMR谱（图2.2）中，δ10.92的双峰，对应An1中2个醛基中氢的化学位移；δ9.24处积分为2的三重峰分别对应于An1中的2个萘环上的8 号

氢；δ8.04、δ7.75、δ7.63、δ7.42、δ7.27处积分均为2的峰对应于2个萘环的4、

5、7、6、3号氢，δ4.36、δ2.16处积分为2的峰对应于中间碳链上的氢。从谱图中可以明显看出，在CDCl3溶剂中，An1本身结构对称，在1H NMR图中峰的组数较少、裂分情况相对简单。

CHO

O O



CHO

+ H N NH



65℃MgSO4



(CH2) 3

N N





(CH2) 4

2 2

乙酸乙酯

O O

(CH2) 4



图2.3 配体dnbp的合成路线

Fig. 2.3 The synthetic route ligand dnbp

称取二醛An1 0.44g(1 mmol)于100 mL三颈烧瓶中，加入10 mL 乙酸乙酯，2

g无水硫酸镁，在65℃下加热搅拌，滴加含有0.07 g(1 mmol) 1,3-丙二胺的乙酸乙酯溶液4 mL，1 h内滴完，反应4小时，趁热过滤得明黄色液体，滤液在室温下静置48小时，有淡黄色结晶产生，抽滤后用乙酸乙酯重结晶，得黄色结晶，真空干燥。即为醚链桥联环状Salen配体dnbp。产率42%。元素分析：C, 79.75(79.79); H, 6.73(6.46); N, 6.20(6.42); O，7.30(7.33). ES-MS: 437.2(M+1). IR(KBr, v/cm-1):

-21-

1212(-CH2)； 1268(C-O)； 1635(C=N)。1H NMR (500 MHz, CDCl3) δ 9.14 (s, 1H),

9.10 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 7.89 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 7.78 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.54 (t, *J*

= 7.7 Hz, 1H), 7.37 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H), 7.29 – 7.24 (m, 1H), 4.29 (s, 2H), 3.84 – 3.76 (m, 2H), 2.41 (t, *J* = 4.5 Hz, 1H), 2.11 (s, 2H).











图2.4 配体dnbp的1H NMR Fig. 2.4 1H NMR spectrum of dnbp

在dnbp的1H NMR谱（图2.4）中，δ9.14处积分为2的单峰，对应dnbp中2个C=N键中C上的氢，δ9.10处积分为2的二重峰对应于dnbp中的2个萘环上的4号氢；δ7.89、δ7.78、δ7.54、δ7.37、δ7.29处积分均为2的峰对应于2个萘环的10个氢，δ4.29、δ3.84、δ2.11处积分为4的峰分别对应于中间碳链上的氢。从谱图中可以看出，在CDCl3溶剂中的1H NMR图，dnbp结构对称，合成产物符合预期。

### **2.4.2** 环状**Salen**配体的合成讨论

环状Salen配体的合成，理论上可以有2种方式进行：（1）。以2-羟基-1-萘甲醛与二胺类化学物进行希夫碱反应形成Salen，再与二卤代烷成醚键闭环反应。

（2）. 以2-羟基-1-萘甲醛与二卤代烷生成对称二醚化合物，再进行希夫碱加成形

-22 -

成闭环。经笔者大量尝试，反复实验，若使用方法（1），则很难生成对称醚键而进行环状Salen配体。而用方法（2）则可以生成对称二醚化合物，但反应时间一般在12 h以上。经反复摸索实践，以DMF做溶剂，加入2种催化剂K2CO3、KI可有效缩成醚反应时间为2 h左右，且产率在50%以上。进行Salen成环反应时可用乙酸乙酯做溶剂，并加入无水硫酸镁使反应正向进行，

### **2.4.3** 配合物的合成

配合物1(dnbp-Mn)取dnbp 0.15g(0.3mmol)置于150 mL三颈烧瓶中，加入4 mL

DMF溶液。60℃下搅拌，加入含有Mn(Ac) 2·2H2O 0.10g (0.3mmol)的DMF溶液

2mL，反应4h，倒入烧杯中冷却，抽滤，用冷丙酮和冷甲醇淋洗1次。得深棕色粉末。真空干燥。产率55%. 元素分析：C, 67.30(67.63)；H,5.72(5.68)；N，5.01(5.09)。IR(KBr, v/cm-1): 1267(C-O); 1535(C-H)；1669(C=N). ICP: Mn，11.01(9.98)。

配合物2(dnbp-Co)取dnbp 0.15g(0.3mmol)置于150 mL三颈烧瓶中，加入4 mL

DMF溶液。60℃下搅拌，加入含有Co(Ac) 2·4H2O 0.11g (0.3mmol)的DMF溶液2mL，反应4h，倒入烧杯中冷却，抽滤，用冷丙酮和冷甲醇淋洗1次。得红棕色粉末。真空干燥。产率58%. 元素分析：C, 66.30(67.14)；H, 4.62(5.63)；N，4.98(5.05)。IR(KBr, v/cm-1): 1267(C-O); 1511(C-H)；1668(C=N). ICP: Mn，11.01(10.63)。

配合物3(dnbp-Cu)取dnbp 0.15g(0.3mmol)置于150 mL三颈烧瓶中，加入4 mL

DMF溶液。60℃下搅拌，加入含有Cu(Ac) 2·2H2O 0.11g (0.3mmol)的DMF溶液2mL，反应4h，倒入烧杯中冷却，抽滤，用冷丙酮和冷甲醇淋洗1次。得绿色粉末。真空干燥。产率45%. 元素分析：C, 69.30(69.65)；H, 5.68(5.64)；N，5.51(5.6)。IR(KBr, v/cm-1): 1268(C-O); 1512(C-H)；1668(C=N). ICP: Mn，11.01(12.71)。

配合物4(dnbp-Zn)取dnbp 0.15g(0.3mmol)置于150 mL三颈烧瓶中，加入4 mL

DMF溶液。60℃下搅拌，加入含有Zn(Ac) 2·2H2O 0.12g (0.3mmol)的DMF溶液2mL，反应4h，倒入烧杯中冷却，抽滤，用冷丙酮和冷甲醇淋洗1次。得红灰白色粉末。真空干燥。产率64%. 元素分析：C, 68.83(69.39)；H, 5.65(5.62)；N，5.51(5.58)。IR(KBr, v/cm-1): 1268(C-O); 1512(C-H)；1668(C=N). ICP: Mn，11.01(13.03)。

## **2.5** 配合物与**DNA**的相互作用研究

### **2.5.1** 紫外吸收光谱

紫外吸收光谱是研究小分子与DNA作用的最常用方法之一，根据观察DNA紫外可见光谱发生的一系列变化探究出不同配合物或同系配合物与DNA结合的作用方式，DNA分子含有芳香环结构的碱基和磷酸生色基团，其在260nm左右处

-23-

的电子吸收光谱有强吸收峰[25]，由于DNA靶向小分子或自身具有光学活性或与

DNA结合后会产生光学活性，因此采用紫外可见光谱法可以通过观察DNA与靶向小分子结合后结构上的变化研究其结合机理，一般而言，小分子与DNA发生插入作用时，其吸收光谱会出现减色效应和红移现象。这是因为插入配体与DNA的碱基对发生电子堆积后，使其\*空轨道与碱基的电子轨道发生偶合重叠，使其能级下降，导致\*跃迁能减小，从而产生红移现象[26]。同时，偶合后的

轨道因部分填充电子，使电子跃迁几率减小，产生减色效应。减色率能一定程度地反映配合物与DNA的作用强弱，配合物溶液的吸光度值为ε*0，*加入一定量

DNA后溶液的吸光度为ε*1*，按下式计算减色率：

减色率＝(*ε0-ε1) /ε0*

图2.5是dnbp-Mn、dnbp-Co、dnbp -Cu、dnbp -Zn在加入DNA溶液后的紫外吸收光谱图，随着DNA的加入，四种配合物的吸收光谱均可观察到明显的减色效应。其减色率分别在376 nm, 333 nm, 333 nm, 327 nm为26.3%，36.1%，23.4%，19.1%。其吸等收点分别在519 nm, 441 nm,450 nm, 424 nm。表现出插入结合的特征。

dnbp-Co

0.7

配合物6

0.30

0.28

0.26

0.24

0.22

0.20

0.18

0.16

A

0.14

0.12

0.10

0.08

0.06

0.04

0.02

0.00

300 350 400 450 500 550 600 650

Wavelength /nm

0.6

0.5

0.4

0.3

A

0.2

0.1

0.0

300 400 500 600

Wavelength /nm

0.35

0.30

0.25

0.20

A

0.15

0.10

0.55

dnbp-Cu

0.50

dnbp-Zn

0.45

0.40

0.35

0.30

A

0.25

0.20

0.15

0.05

0.00

300 350 400 450 500 550 600 650

Wavelength /nm

0.10

0.05

0.00

300 350 400 450 500 550 600 650

Wavelength /nm

图2.5 配合物1-4与DNA作用的紫外光谱滴定图Fig. 2.5 UV titration map of complexes with DNA

通过观察配合物的某一波长的吸光度随DNA浓度的变化还可以计算出配合

-24 -

物与DNA的结合常数，具体公式如下：通过下式可以计算出配合物与DNA的结合常数[27]。

*CDNA/(εa-εb) =CDNA/(εa-εf) +(1/*Kb*)*×*(εb- εf )*

式中CDNA代表DNA的浓度，ε*a*，ε*f*和ε*b*分别代表在各DNA浓度下的、游离的和与DNA结合时配合物的摩尔吸光系数。Kb可由拟合直线斜率与y轴相交的截距求得。

计算结果为K1=0.88×104 mol-1·L，K2=5.35×104mol-1·L，K3=0.81×104mol-1·L，K4=0.76×104 mol-1·L。结合常数有K2> K1> K3> K4，由于萘环的平面性较好且环状Salen的柔性臂的加入，使得配合物能够插入DNA中，比较不同配合物能与DNA的作用强度，Mn、Co配合物明显强于Cu、Zn，是Co配合物明显大于其它金属配合物。不同中心离子配合物的结合常数不同应该与离子本身的性质有关。

### **2.5.2** 配合物与**DNA**相互作用的粘度研究

粘度研究可确定小分子化合物与DNA作用模式。当含有平面芳环的小分子化合物或配合物以插入方式到DNA中时，DNA相邻碱基对的距离会变大以容纳插入配体致使DNA能伸长，使得DNA溶液粘度增加。粘度法是在缺少晶体结构资料的情况下检测配合物与DNA是否发生插入作用结合的最有效途径[28]。当以有些含平面芳环小分子或小分子配合物部分插入方式进入DNA碱基对时，伴随产生DNA双螺旋链的扭结，导致DNA溶液粘度下降[29]。而当化合物以沟面结合或静电方式作用于DNA时，DNA溶液粘度不发生明显变化[30]。据此可区分小分子与DNA作用产生的不同键合模式。

将一定量配合物1、2、3、4按照CM/CDNA=0, 0.03, 0.06, 0.09, 0.12, 0.15分别加入到配制好的DNA溶液中，于容量瓶中充分混合，放置在4℃下24小时后测量，缓冲液流经毛细管所用时间为82.6秒，测得DNA溶液流经毛细管所需时间t见下表2.3

表2.3 DNA中加入不同配合物后流经毛细管所需时间

Tab. 2.3 Time of 4 complexes adding in the DNA after flowing through the capillary

| 时间/s 配合物 | t1 | t2 | t3 | t4 | t5 | t6 |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| dnbp-Mn | 85.2 | 85.6 | 86.1 | 86.9 | 87.4 | 88.0 |
| dnbp-Co | 85.2 | 85.6 | 86.2 | 86.6 | 86.9 | 87.6 |
| dnbp-Cu | 85.2 | 85.4 | 85.3 | 85.6 | 86.0 | 86.2 |
| dnbp-Zn | 85.2 | 85.5 | 85.6 | 85.4 | 85.7 | 85.9 |

不同浓度配合物在对DNA溶液中的相对粘度变化情况如下表2.4

表2.4 不同浓度配合物在对DNA溶液中的相对粘度变化值

-25-

Tab2.4 Time of four complexes adding in the DNA after flowing through the capillary

| CM/CDNA  （η/η0）1/3 | 0 | 0.03 | 0.06 | 0.09 | 0.12 | 0.15 |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| dnbp-Mn | 1.0000 | 1.0489 | 1.1042 | 1.1826 | 1.2267 | 1.2759 |
| dnbp-Co | 1.0000 | 1.0489 | 1.1146 | 1.1544 | 1.1826 | 1.2436 |
| dnbp-Cu | 1.0000 | 1.0250 | 1.0127 | 1.0489 | 1.0935 | 1.1146 |
| dnbp-Zn | 1.0000 | 1.0371 | 1.0489 | 1.0250 | 1.0604 | 1.0827 |

将不同浓度配合物1～4分别加入DNA溶液中对DNA溶液的相对粘度变化情况绘制成图2.6



图2.7 配合物对DNA粘度的影响

Fig2.6 Effect of increasing amounts of complexes on the relative viscosities of DNA

从图2.6可看出，配合物浓度的增加对DNA粘度的影响呈正相关性，表明配合物与DNA的作用方式均为插入作用，含Mn、Co、Cu中心离子的配合物对DNA粘度变化作用更明显，含Zn的配合物对DNA粘度变化作用较弱。印证了前面的紫外吸收光谱滴定的实验结论。

## **2.6** 本章小节

本章以2-羟基-1-萘醛和1, 4-二溴丁烷合成对称双醚链中间体，再与1, 3-丙二胺反应生成四碳链醚链桥联环状Salen配体，进而分别与醋酸锰、醋酸钴、醋酸铜及醋酸锌4种醋酸盐配位形成4个环状Salen金属配合物。通过紫外光谱滴定和粘度测定分析：含过渡金属Mn、Co、Cu，Zn中心离子的配合物的紫外吸收光谱

-26 -

在加入定量DNA溶液后均表现出减色现象，但含Cu，Zn中心离子的配合物减色效应弱于含Mn、Co中心离子的配合物。DNA溶液的粘度与金属配合物的浓度呈现正相关性，Mn、Co中心离子的配合物对DNA粘度的增加均强于含Cu，Zn中心离子的配合物。4种配合物对DNA的作用都有插入作用特征。这可能与中心离子都带正电性，易与带负电的DNA大阴离子结合，进而影响配合物与DNA作用方式为插入作用。

-27-

参考文献

[1] Pedersen C. J. Cyclic polyeters and their complexes with metal salts [J]. Journal of the American Chemical Society, 1967, 89(10): 2495 -2496.

[2] Pilkington, N. H., Robson, R. Complexes of binucleating ligands III novel complexes of a macrocyclic binuleating ligand [J]. Aust. J. Chem., 1970, 23: 2225-2236.

[3] Zheng, X. L. Jones, C. W. Weck, M. Ring-expanding olefin metathesis: A route to highly active unsymmetrical macrocyclic oligomeric co -salen catalysts for the hydrolytic kinetic resolution of epoxides [J]. Am. Chem. Soc. 2007, 129, 1105.

[4] 袁泽利, 胡庆红, 吴庆, 张铭钦, 朱必学. 大环席夫碱化合物的合成及其抗菌活性研究[J]. 有机化学, 2009, 29, 282.

[5] 梅群波, 杜乃婴, 吕满庚. 高分子金属配合物发光材料的制备技术进展[J]. 现代化工, 2004, 24(4): 23-26.

[6] Amos B. Smith, III Barry A. Wexler, Chin Yun Tu, et al. Stereoelectronic effects in the cationic rearrangements of [4.3.2] propellanes [J]. Am. Chem. Soc., 1985, 107: 1308 -1320.

[7] Okamoto Y, Veba Y, Dzhanibekov N F, et al. Characterizatiation of Ion -Containing Polymer Sturctures Using RareEarth Metal Fluorescence Probes [J]. Macromol, 1981, 14(1): 17 -22.

[8] Masao Kaneko, Akira Yamada, Eishun Tsuchida, et al. Novel effect of neighboring groups onthe quenching of the excited state of a polymer-pendant Ru(bpy) 32+ by methyl viol ogen [J]. J PhysChem, 1984, 88(6): 1061-1062.

[9] Victor Gold, Michael E. McAdam. Radiation -induced organic hydrogen isotope exchange reactions in aqueous solution [J]. Acc. Chem. Rev., 1978, 11(1): 36 -43.

[10] Orihashi, Yuji; Kobayashi, Norihisa; Tsuchida, et al. H ighly conductive single crystals of metallophthalocyanine [J]. Chem Lett, 1985, 11: 1617 -1620.

[11] Kingo Itaya and Kimio Shibayama. Prussian -blue-modified electrodes: An application for a stable electrochromic display device [J]. Appl Phys, 1982, 53(1): 804-805.

[12] Leung D H, Bergman R G, Raymond K N. Highly Selective Supramolecular Catalyzed Allylic Alcohol Isomerization [J]. J. Am. Chem. Soc. 2007, 129, 2746.

[13] Wang L L Y, Joullie M M. Synthesis of bis -benzimidazoles. [J]. J. Am Chem Soc, 1957, 79(2 1): 5706-5708.

[14] Aydin T. Fe(III), Co(II), Ni(II), Cu(II) complexes of 1, 2 -bis (2 – 1 H – benzimidazolyl) -1, 2-ethanediol and 1, 4-bis(2-1H-benzimidaolyl) -1, 2, 3, 4 - butanetetraol [J]. Rev Inorg Chem, 2002, 22(1): 41 -51.

[15] Zhou Y L, Meng F Y, Zhang J, et al. Mononuclear, tetra -, penta-3d molecular clusters based on the variability of ss-1, 2-bis(1H-benzimidazo-l2-yl) -1, 2-enthanediol ligand arising from hydroponic and hydrothermal conditions: structure, crystal growth, andmagnetic properties [J]. Cr ystalGrowth & Design, 2009, 9(3): 1402 -1410. -28 -

[16] An H Y, Bradshaw S J, Krakowiak E K, et al. Synthesis and complexation properties of suitcase -shaped macrotricyclic and butterfly-shaped macrobicyclic polyether ligands [J]. J. Org. Chem., 1992, 57 (18): 4998–5005.

[17] Bailey N A, Fenton D E, William M G, et al. Complexes of ligands providing endogenous bridges. Part 7. The concurrent formation of 1 + 1 and 2 + 2 oxa -azamacrocycles; the X-ray crystal structure of an exocyclic dinuclear copper(II) complex [J]. J. Chem. Soc., Dalton Trans., 1989, 1727 -1738

[18] Sakamoto H, Kimura K, Koseki Y, et al. Highly selective cation transport through membranes containing lipophilic bis(monoaza-crown ether) s [J]. J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2, 1987, 1181 -1185

[19] 陈展虹. [2+2] 型Schiff碱大环化合物及其配合物的合成. [J]. 有机化学. 2004, 24(14): 1633-1636.

[20] 吴庆, 袁泽利, 肖苹英等. 含2-取代-1, 3-硫杂环戊烷的大环席夫碱的合成、表征及其生物活性的研究 [J]. 化学通报. 2011, 74(8): 765 -768.

[21] 张铭钦, 杨兴变, 吴庆, 胡庆红. 含醚链桥联的新型大环席夫碱化合物的合成与表征 [J]. 化工时刊. 2009, 23(3): 10-12.

[22] 王银平, 吴起峰, 等. Ho(Ⅲ)希夫碱大环配合物的合成、晶体结构及对DNA的切割活性[J]. 高等学校化学学报. 2010, 31(12): 2344-2348.

[23] 杨频, 郭茂林. 金属抗癌剂研究进展与两级互补理论[J]. 化学通报, 1996, 59(l): 6-11.

[24] 张立金, 贾蔡威. 乙霉威和百克威与DNA的相互作用[D]. 北京: 中国农业大学硕士学位论文, 2004.

[25] 凌连生, 杨洗, 何治柯, 等. Ru(bipy) 2 (dppz) 2+与DNA相互作用的光谱研究[J]. 分析科学学报, 2001, 17(l): 11-15.

[26] 王荣民, 王云普, 李树本. 高分子担载希夫碱金属配合物的制备与性能[J]. 高分子通报, 1998, 1: 33-39.

[27] Hartshorn R M, Barton J K. Novel dipyridophenazine complexes of ruthenium(II): exploring luminescent reporters of DNA [J]. Am. Chem. Soc., 1992, 114(15), 5919 -5925.

[28] Sigma D S, Mazumder A, Perrin D M. A chemical nuclease [J]. Chem. Rev. 1993, 93(6): 229 -2316.

[29] Satyanarayana S., Dabrowiak J. C., Chaires J. B. Tris(phenanthroline) ruthenium(II) enantiomer interactions with DNA: Mode and specificity of binding [J]. Biochemistry, 1993, 32 (10): 2573–2584.

[30] Liu J. G, Ye B H, Li H. Polypyridyl ruthenium(II) complexes containing intramolecular hydrogen -bond ligand: syntheses, characterization, and DNA -binding properties [J]. J. Inorg. Biochem., 1999, 76, 265-271.

-29-

-30 -

# 第三章 五碳链双醚桥链环状**Salen-**金属配合物及其与

**DNA的相互作用**

## **3.1** 引言

近年来，有机金属配合物与DNA的相互作用的研究已经成为科学工作者感兴趣的课题[1-6]。环状席夫碱的合成及功能的研究已有报道[7, 8]，但其与DNA的相互作用研究还尚不多见。一些含萘环结构的Salen金属配合物对DNA会产生插入作用[9-11]。且刚性平面越大，插入作用特征越明显[12]。

本文以2-羟基-1-萘甲醛与1, 5-二溴戊烷，再与1, 3-丙二胺进行席夫碱缩合反应合成环状Salen配体dnpp，尔后与四种过渡金属醋酸盐（醋酸锰、醋酸钴、醋酸锌、醋酸铜）合成4种环状Salen-金属配合物。运用紫外可见光谱法及粘度分析法研究了其与DNA的相互作用。本章所涉及的化合物如下：

(CH2) 3

N O

N

O

(CH2) 5

配体dnpp

(CH2) 3 (CH2) 3

N N Mn

N N Co

O O O O

(CH2) 5 (CH2) 5

配合物1（dnpp-Mn）配合物2( dnpp-Co)

(CH2) 3 (CH2) 3

N N Cu

N N Zn

O O O O

(CH2) 5 (CH2) 5

配合物3（dnpp-Cu）配合物4( dnpp-Zn)

-31-

## **3.2** 实验部分

### **3.2.1** 实验试剂

醋酸锰、醋酸钴、醋酸铜、醋酸锌(AR，昆明贵金属研究所)，1,3-丙二胺(AR，广州化学试剂厂)，2-羟基-1-萘甲醛（AR，萨恩化学技术有限公司），小牛胸腺

DNA(BR，华美生物工程公司)，氯化钠(AR，湘中地质研究所)，Tris(AR，sigma

公司）。

### **3.2.2** 实验仪器

参见第二章2.2

## **3.3** 实验方法

参见第二章2.3

## **3.4** 配体及配合物的合成及表征

### **3.4.1** 配体**dnpp**的合成

CHO

2

OH + Br Br

65℃DMF K2CO3, KI

CHO

O

O (CH2) 5

CHO

图3.1 五碳链醚链桥联二醛An2的合成路线

Fig. 3.1 **The synthetic route An2**

五碳链醚链桥联二醛An2的合成：在100 mL三颈烧瓶中加入3.45g(20 mmol) 2-羟基-1-萘甲醛，1.38 g(10 mmol) 无水K2CO3, 1.66 g(10 mmol) KI. 并以10 mL

DMF溶解，在70℃水浴下搅拌。再以恒压8秒每滴速度滴加溶有1,5-二溴戊烷2.3 g (10 mmol)的DMF溶液4 mL。反应2 h，冷却后将反应混合液倒入冰水中，抽滤，用水洗3次，乙醇洗3次。所得固体用DMF重结晶。真空干燥后得白色晶体。产率64%。元素分析：C, 78.58(78.62); H, 5.89(5.86); O, 15.55(15.52). ES-MS:

M/z=413.2(M+1). IR(KBr, v/cm-1): 1179(-CH2); 1270(C-O); 2799(-CHO).1H NMR (500 MHz, CDCl3)δ 10.92 (d, J = 10.3 Hz, 1H), 9.26 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 8.03 (d, J =

9.3 Hz, 1H), 7.76 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.59 (s, 1H), 7.40 (d, J = 7.0 Hz, 1H), 7.32 –

7.25 (m, 1H), 4.26 (d, J = 5.9 Hz, 2H), 1.98 (s, 2H), 1.83 – 1.52 (m, 2H).

-32 -





图3.2 An2的1H NMR

Fig. 3.2 1H NMR spectrum of An2

在An2的1H NMR谱（图3.2）中，δ10.92的双峰，对应An2中2个醛基中氢的化学位移；δ9.26处积分为2的三重峰分别对应于An1中的2个萘环上的8 号

氢；δ8.03、δ7.76、δ7.59、δ7.40、δ7.32处积分均为2的峰对应于2个萘环的4、

5、7、6、3号氢，δ4.26、处积分为2的峰对应于与O相邻烷烃的1位氢。从谱图中可以看出，在CDCl3溶剂中，由于An2本身结构对称，在1H NMR图中峰的组数较少、裂分情况相对简单。

CHO

CHO

(CH2) 3

65℃DMF N N

O O

(CH2) 5

+ H2N NH2

O O

(CH2) 5

图3.3 配体dnpp的合成路线

Fig. 3.3 The synthetic route ligand dnpp

称取二醛An2 0.43g(1 mmol)于100 mL三颈烧瓶中，加入20 mL DMF，在75℃下加热搅拌，待其完全溶解后滴加含有0.06 g(1 mmol) 1,3-丙二胺的DMF溶液4 mL，1 h内滴完，反应4小时，室温下静置24小时，有白色色结晶产生，抽滤后用CHCl3-DMF混和液重结晶，得淡白色针状结晶，真空干燥。即得醚链桥联环状Salen配体dnpp. 产率38%. 元素分析：C, 79.72(79.79); H, 6.43(6.46); N, 6.37(6.42); O, 7.30(7.33). ES-MS: 437.1(M+1). IR(KBr, v/cm-1): 1212(-CH2)；

-33-

1267(C-O)；1644(C=N) 。 1H NMR (500 MHz, CDCl3) δ 9.06 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 9.00

(s, 1H), 7.83 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 7.75 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.52 (ddd, *J* = 8.4, 6.8, 1.2

Hz, 1H), 4.19 (t, *J* = 5.4 Hz, 2H), 3.87 – 3.82 (m, 2H), 2.42 – 2.37 (m, 1H), 1.88

(ddd, *J* = 32.1, 19.6, 6.8 Hz, 3H).







图3.4 配体dnpp的1H NMR

Fig. 3.4 1H NMR spectrum of ligand dnpp

在dnpp的1H NMR谱（图3.4）中，δ9.06处积分为2的单峰，对应dnpp中2个C=N键中C上的氢，δ9.00处积分为2的单重峰对应于dnbp中的2个萘环上的4号氢；δ7.83、δ7.75、δ7.52处的峰对应于2个萘环的氢，δ 4.19、δ 3.87分别为与O及N相连烷烃上的氢。从谱图中可以看出，在CDCl3溶剂中的1H NMR图，dnpp结构对称，合成产物符合预期。

### **3.4.2** 配合物的合成

配合物1(dnpp-Mn)取dnpp 0.13g(0.3mmol)置于150 mL三颈烧瓶中，加入4 mL

DMF溶液。60℃下搅拌，加入含有Mn(Ac) 2·4H2O 0.10g (0.3mmol)的DMF溶液

2mL，反应4h，倒入烧杯中冷却，抽滤，用冷丙酮和冷甲醇淋洗1次。得红棕色粉末。真空干燥。产率55%. IR(KBr, v/cm-1): 1269(C-O)；1512(C-H)；1666(C=N). 元素分析：C, 65.43(65.49)；H, 5.72(5.82)；N, 4.39(4.49). ICP: Mn, 8.77(8.81)。

-34 -

配合物2(dnpp-Co)取dnpp 0.13g(0.3mmol)置于150 mL三颈烧瓶中，加入4 mL

DMF溶液。60℃下搅拌，加入含有Co(Ac) 2·4H2O 0.11g (0.3mmol)的DMF溶液2mL，反应4h，倒入烧杯中冷却，抽滤，用冷丙酮和冷甲醇淋洗1次。得暗棕色粉末。真空干燥。产率62%. IR(KBr, v/cm-1): 1269(C-O); 1512(C-H)；1667(C=N). 元素分析：C, 65.02(65.07)；H, 5.73(5.78)；N, 4.40(4.46). ICP: Mn, 8.77(8.81)。

配合物3(dnpp-Cu)取dnpp 0.13g(0.3mmol)置于150 mL三颈烧瓶中，加入4 mL

DMF溶液。60℃下搅拌，加入含有Cu(Ac) 2·2H2O 0.11g (0.3mmol)的DMF溶液2mL，反应4h，倒入烧杯中冷却，抽滤，用冷丙酮和冷甲醇淋洗1次。得蓝色粉末。真空干燥。产率38%. IR(KBr, v/cm-1): 1249(C-O); 1513(C-H)；1667(C=N). 元素分析：C, 64.53(64.59)；H, 5.71(5.74)；N, 4.40(4.43). ICP: Mn, 10.01(10.05)。

配合物4(dnpp-Zn)取dnpp 0.13g(0.3mmol)置于150 mL三颈烧瓶中，加入4 mL

DMF溶液。60℃下搅拌，加入含有Zn(Ac) 2·2H2O 0.12g (0.3mmol)的DMF溶液2mL，反应4h，倒入烧杯中冷却，抽滤，用冷丙酮和冷甲醇淋洗1次。得白色粉末。真空干燥。产率40%. IR(KBr, v/cm-1): 1269(C-O); 1512(C-H)；1666(C=N). 元素分析：C, 65.33(64.41)；H, 5.74(5.72)；N, 4.37(4.42). ICP: Mn, 10.19(10.31)。

## **3.5** 配合物与**DNA**的相互作用研究

### **3.5.1** 紫外吸收光谱

紫外吸收光谱是研究小分子与DNA作用的最常用方法之一，根据观察DNA紫外可见光谱发生的一系列变化探究出不同配合物或同系配合物与DNA结合的作用方式。一般而言，小分子与DNA发生插入作用时，其吸收光谱会出现减色效应和红移现象[13, 14]。这是因为插入配体与DNA的碱基对发生电子堆积后，使其\*空轨道与碱基的电子轨道发生偶合重叠，使其能级下降，导致\*跃迁能减小，从而产生红移现象。同时，偶合后的轨道因部分填充电子，使电子跃迁几率减小，产生减色效应。

减色率能一定程度地反映配合物与DNA作用的强弱，若减色率高于10%，则可认为配合物与DNA发生了弱相互作用，减色率越高说明配合物与DNA的相互作用越强。设配合物的吸光度值为ε*0*，加入一定量DNA后溶液的吸光度为ε*1*，则有：

减色率＝(*ε0-ε1) /ε0*

图3.5是dnpp-Mn、dnpp-Co、dnpp-Cu、dnpp-Zn在加入DNA溶液后的紫外吸收光谱的变化情况，其减色率在400 nm为31.3%，60.0%, 28.9%，10.2%. 其等吸收点分别在530 nm, 438 nm, 453 nm, 454 nm. 说明dnpp-Mn、dnpp-Co和

-35-

dnpp-Cu与DNA相互作用较强。而dnpp-Zn对DNA的作用强度不如其它3种配合物明显。四种配合物对DNA表现出插入结合的特征[15]。

0.9

0.8

0.7

0.40

dnpp-Co

0.35

0.30

0.6

0.5

A

0.4

0.3

0.2

0.1

0.25

0.20

A

0.15

0.10

0.05

dnpp-Mn

0.0

300 350 400 450 500 550 600 650

Wavelength /nm

0.00

300 350 400 450 500 550 600 650

Wavelength /nm

dnpp-Zn

0.7 0.9



dnpp-Cu

0.8

0.6

0.7

0.5 0.6

0.5

0.4

A

A

0.4

0.3 0.3

0.2

0.1

300 350 400 450 500 550 600 650

Wavelength /nm

0.2

0.1

0.0

300 350 400 450 500 550 600 650

Wavelength /nm

图3.5 配合物1-4与DNA作用的紫外光谱滴定图

Fig. 3.5 UV titration map of complexes with DNA

通过观察配合物某一波长吸光度随DNA浓度的变化，可通过下式[16]计算出配合物与DNA的结合常数

*CDNA/(εa-εb) =CDNA/(εa-εf) +1/*Kb*(εb- εf )*

式中*CDNA*代表DNA的浓度，ε*a*，ε*f*和ε*b*分别代表在各DNA浓度下的、游离的和与DNA结合时配合物的摩尔吸光系数。Kb可由拟合直线斜率比y轴相交的截距求得。得K1=5.52×104 mol-1·L，K2=4.37×105mol-1·L，K3=4.89×104 mol-1·L，K4=4.16×104 mol-1·L。结合常数有K2> K1> K3> K4，配合物中都含有萘环，dnpp-Co配合物与DNA的结合常数较大，由于萘环的平面性较好且环状Salen的柔性臂的加入，使得配合物能够插入DNA中，不同中心离子配合物的结合常数不同应该与离子本身的性质也密不可分。

与第二章4种配合物相比有：中心离子相同但配体不同的配合物，有dnpp-M的结合常数大于dnbp-M的结合常数，这说明金属配合物与DNA作用不仅仅是与中心离子有关，还有与配的结构有关。由于dnpp比dnbp的柔性臂更长，这可能是导致dnpp相应的配合物与DNA作用强度更强的原因。

-36 -

### **3.5.2** 配合物与**DNA**相互作用的粘度研究

当配合物与DNA以插入作用结合时，会使DNA粘度增加。可方便地用流体力学法观察出配合物与DNA是否发生插入作用结合[17]。将配合物dnpp-Mn、dnpp-Co、dnpp-Cu、dnpp-Zn按CM/CDNA=0, 0.03, 0.06, 0.09, 0.12, 0.15分别加入到配制好的DNA溶液中，于容量瓶中充分混合，放置在4℃下24小时后测量，缓冲液流经毛细管所用时间为82.6秒，测得DNA样品（分别含浓度不等八种配合物）流经毛细管所需时间t见下表3.1

表3.1 DNA中加入不同配合物后流经毛细管所需时间

Tab. 3.1 Time of 8 complexes adding in the DNA after flowing through the capillary

| 时间/s  配合物 | t1 | t2 | t3 | t4 | t5 | t6 |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| dnpp-Mn | 85.2 | 85.7 | 86.0 | 86.9 | 87.6 | 88.2 |
| dnpp-Co | 85.2 | 85.7 | 85.8 | 86.3 | 86.8 | 87.2 |
| dnpp-Cu | 85.2 | 85.5 | 85.7 | 86.0 | 86.1 | 86.5 |
| dnpp-Zn | 85.2 | 85.5 | 85.7 | 85.8 | 86.1 | 86.2 |

不同浓度配合物在对DNA溶液中的相对粘度变化情况如下表3.2

表3.2 不同浓度配合物在对DNA溶液中的相对粘度变化值

Tab3.2 Time of four complexes adding in the DNA after flowing through the capillary

| CM/CDNA  （η/η0）1/3 | 0 | 0.03 | 0.06 | 0.09 | 0.12 | 0.15 |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| dnpp-Mn | 1.0000 | 1.0604 | 1.0935 | 1.1826 | 1.2436 | 1.2914 |
| dnpp-Co | 1.0000 | 1.0604 | 1.0717 | 1.1248 | 1.1733 | 1.2095 |
| dnpp-Cu | 1.0000 | 1.0371 | 1.0604 | 1.0935 | 1.1042 | 1.1447 |
| dnpp-Zn | 1.0000 | 1.0371 | 1.0604 | 1.0717 | 1.1042 | 1.1146 |

将不同浓度配合物分别加入DNA溶液中对DNA溶液的相对粘度变化情况绘制成图3.6

-37-



图3.6 配合物对DNA粘度的影响

Fig3.6 Effect of increasing amounts of complexes on the relative viscosities of DNA

从图3.6可看出，配合物浓度的增加与DNA粘度相关，表明配合物与DNA的作用方式均为插入作用，Mn、Co配合物对DNA粘度变化作用更明显，Cu、Zn配合物对DNA粘度变化作用相似。印证了前面的紫外吸收光谱滴定的实验结论。

## **3.6** 本章小结

合成与表征了五碳链双醚桥链环状Salen配体及相应4种含过渡金属Mn、Co、

Cu，Zn中心离子的配合物。配合物的紫外吸收光谱在加入DNA溶液后均表现出减色现象，但含Cu，Zn中心离子的配合物减色效应弱于含Mn、Co中心离子的配合物。DNA溶液的粘度与金属配合物的浓度呈现正相关性，Mn、Co中心离子的配合物对DNA粘度的增加均强于含Cu、Zn中心离子的配合物。与第二章dnbp-金属配合物相比，同种金属离子的dnpp-金属配合物与DNA的结合能力较强，这可能与dnpp配体有着更长的柔性臂、更小的扭转张力和空间位阻，易于与DNA分子相结合。与前面的工作对比：

1. Mn、Co的环状Salen配合物对DNA粘度的影响与非环状Salen金属配合物相似。

2.我们以前对Cu-Salen、Zn-Salen配合物的研究表明，其金属-Salen配合物与

DNA的作用并未表现出插入模式的结合，分析认为主要是配合物呈电中性的原因。但本章Cu、Zn的环状Salen配合物明显呈现出减色效应，使DNA溶液的粘度增加，这表明Cu、Zn金属配合物也能够与DNA以插入模式结合，可能是因为环状Salen与Cu、Zn金属配合时，带有正电性，易于与带负电的DNA大阴离子结合，表现出与DNA的作用方式为插入作用。

-38 -

参考文献

[1] 王素芬, 彭图治, 李建平. 更生霉素-DNA反应的电化学研究[J]. 高等学校化学学报. 2003, 24(8): 1468-1471.

[2] 陈欣研, 费锡明. 一种Cu(Ⅱ) Schiff碱配合物与DNA相互作用的研究[J]. 分析测试学报. 2006, 25(4): 98-100.

[3] 胡瑞定, 朱伟琴. 锌(Ⅱ)配合物与 DNA 作用的研究[J]. 浙江师范大学学报. 2003, 26(4): 380 -383.

[4] He Q, Zhou L X. Theroetical Study on the interaction of Platinum compounds with DNA base pairs [J]. Acta Phys. –Chim. Sin., 2005, 21(8): 846 -851.

[5] 李红, 乐学义, 吴建中, 等. 铜( Ⅱ) 邻菲咯啉蛋氨酸配合物与 DNA 相互作用的研究[J]. 化学学报. 2003, 61(2): 245-250.

[6] 靳兰, 杨频, 李青ft. 荧光法研究手性金属配合物与DNA的作用机理[J]. 高等学校化学学报. 1996, 17(9): 1345-1348.

[7] 袁泽利, 张奇龙, 朱必学. 新型席夫碱大环化合物的合成[J]. 有机化学. 2006, 26(11): 1159 -1593.

[8] 居红芳. Schiff 碱型大环化合物改性壳聚糖的研究[J]. 常熟理工学院学报. 2005, 19(2): 58 -62.

[9] 王梅, 侯林荣, 高作宁, 杨天林. N, N-(2-羟基-1-萘酚醛) -2, 6-二亚胺吡啶合 Co(Ⅱ)配合物与 DNA 相互作用的电化学和紫外可见光谱[J]. 应用化学. 2008, 25(10): 1186 -1191.

[10] 彭斌, 杜程, 韩冬. 不同价态的金属-Salen配合物与DNA的相互作用[J]. 湖南科技大学学报. 2012, 27(3): 91-95.

[11] 张立金, 贾蔡威. 乙霉威和百克威与DNA的相互作用[D]. 北京: 中国农业大学硕士学位论文, 2004.

[12] 彭斌, 周文辉, 谭凤娇, 刘汉文. 基于水杨醛的手性Salen-Mn(Ⅲ)配合物与DNA的相互作用研究[J]. 湖南科技大学学报(自然科学版), 2008, 23(2): 100-103.

[13] Prohaska S J, Fried C, Flamn C, et al. Sureying Phylogenetic footprints in large gene clusters: applications to Hox cluster duplications[J]. Molecula Phylogenetics and Evolution, 2004, 31(2): 581-604.

[14] Oliveira M C B, Couto M S, Severino P C, et a l. Nucleic acid cleavage by a Cu(Ⅱ) Polyaza macrocycliccomplex[J]. Polyhedron, 2005, 24(4): 495 -19.

[15] 彭斌, 刘晓林, 仇明华, 肖敦乾. 含萘环结构Salen-Mn(Ⅲ)和Salen-Co(Ⅲ)配合物与DNA的相互作用研究[J]. 湖南科技大学学报. 2010, 25(1): 99 -101.

[16] Hartshorn R M, Barton J K. Novel dipyridophenazine complexes of ruthenium(II): exploring luminescent reporters of DNA [J]. Am. Chem. Soc., 1992, 114(15), 5919 -5925.

[17] Satyanarayana S, Dabrowiak J C, Chaires J B. Tris(phenanthroline) ruthenium(II) enantiomer interactions with DNA: Mode and specificity of binding [J]. Biochemistry, 1993, 32 (10): 2573–2584.

-39-

-40 -

# **第四章** **Salen-**金属配合物与**DNA**中碱基的相互作用

## **4.1** 引言

DNA是生命遗传物质的承载者，其遗传信息是通过碱基配对的形式携带，对于DNA结构和性能的研究一直引起了人们的普遍关注。通过研究配合物与

DNA的相互作用，从而可以更深入地了解DNA的相关信息，是生物无机化学工作者们感兴趣的课题[1–5]。

我们以Salen-金属配合物为基础化合物，研究了它们与DNA的作用，发现结构中含萘环的配合物可以插入DNA键中，产生较强的作用[6-10]。作用的强弱与配合物中的金属种类与配体的结构有关。但这些配合物作用于DNA时，能否与DNA中的碱基作用？对不同的碱基作用是否不同？探讨这些问题对于进一步研究配合物与DNA的作用机制，开发新型DNA的结构探针以及探寻DNA是否错配等是非常有益的。

荧光光谱法且有易用、快速、精度高等优点，在无机化学及生物化学中有着广泛的应用。通过之前本课题组研究，含蔡环结构的Salen-Mn及Salen-Co配合物以插入模式嵌入到DNA结构中，且其插入作用会降低DNA的荧光强度。为具体探究金属-Salen与DNA作用关系，本文使用荧光法进一步探究Salen-Mn及

Salen-Co配合物与碱基(A, G, C)的相互作用。由于碱基自身具有一定的荧光，通过观察其荧光的猝灭及产生，可以了解配合物与碱基的作用信息。本文用以8种Salen-金属配合物与碱基的作用，发现配合物可以使碱基荧光猝灭，猝灭强度随配合物及碱基的不同而变化。

参照文献方法，合成了N，N'-双（2-羟基-1-萘甲醛）缩邻苯二胺、乙二胺和1,3-

丙二胺的3种Salen配体和N，N'-双(2-羟基-1-萘甲醛) -1, 3-丙二胺缩1, 5-双桥链环状

Salen配体及其与Mn、Co形成的8种配合物，探究了它们对碱基的荧光猝灭效应。结果表明，对于同一碱基来说，Mn配合物比Co更易使碱基发生荧光猝灭；同种配合物与不同的碱基作用时，其猝灭强度大小顺序为胞嘧啶>腺嘌呤>鸟嘌呤，不同结构的Salen配合物对碱基的猝灭强度有非环状Salen配合物>环状Salen配合物，呈现出配合物对碱基作用的选择性。

## **4.2** 实验仪器与试剂

参见第二章2.2

-41-

## **4.3** 配合物的合成

参照文献方法[8,9]合成了3种配体(L1, L2, L3)再分别与Mn、Co反应得到其6

种配合物。

H N NH2

CHO

N

HO

N

OH

2

OH

2 +

H2N NH2

CH3CH2OH

50℃

配体1(L1)

H2N NH2

N

HO

N

OH

配体2(L2)

CHO

CHO

配体3(L3)

(CH2) 3

N

HO

N

OH

65℃DMF N N

O O

(CH2) 5

+ H2N NH2

O O

(CH2) 5

配体4(L4)

N N N N

Mn Co

O O O O

1. Mn(OAc) 2·4H2O

OOCCH3 OOCCH3

配合物1(Mn-L1)配合物4(Co-L1)

or Co(OAc) 2·4H2O

N

O

2. O2 N N N

50℃3.5h Mn Co

O O

O

OOCCH3

配合物2(Mn-L2)

OOCCH3

配合物5(Co-L2)

N N

N

O

N

O

Mn Co

O O

OOCCH3 OOCCH3

配合物3(Mn-L3)

配合物6(Co-L3)

-42 -

(CH2) 3

N N Mn

O O

(CH2) 5

(CH2) 3

N N Co

O O

(CH2) 5

配合物7(Mn-L4)配合物8(Co-L4)

配体4(L4)及配合物7(Mn-L4)、配合物8(Co-L4)的合成及表征参见第三章2.4.3

配合物1(Mn-L1): 元素分析：C, 64.11(65.00); H, 4.33(4.38); N, 5.77(5.83). IR:

1631(C=N); 1519(C-H); 1202(Ar-O); 564(Mn-N); 498(Mn-O). ICP: Mn, 11.13%

（11.46）。表征数据与文献相符。

配合物2(Mn-L2): 元素分析：C, 68.16(68.18): H, 3.83(3.97); N, 5.35(5.30). IR:

1610(C=N); 1505(C-H); 1361(Ar-O); 552(Mn-N); 490(Mn-O). ICP: Mn, 10.27%

（10.14）。表征数据与文献相符。

配合物3(Mn-L3): 元素分析：C, 65.39(65.59); H, 4.63(4.66); N, 5.56(5.67). IR:

1672(C=N); 1566(C-H); 1255(Ar-O); 578(Mn-N); 512(Mn-O). ICP: Mn, 11.21%

（11.13）。表征数据与文献相符。

配合物4(Co-L1): 元素分析：C, 64.27(64.46); H, 4.27(4.34); N, 5.68(5.79). IR: 1645(C=N); 1508(C-H); 1197(Ar-O). ICP: Co, 12.08% (12.19). 表征数据与文献相

符。

配合物5(Co-L2): 元素分析：C, 67.39(67.66); H, 3.97(3.94); N, 5.19(5.26). IR: 1610(C=N); 1499(C-H); 1164(Ar-O). ICP: Co, 11.17% (11.09). 表征数据与文献相

符。

配合物6(Co-L3): 元素分析：C, 64.32(64.89); H, 4.58(4.61); N, 5.42(5.51). IR: 1642(C=N); 1547(C-H); 1235(Ar-O). ICP: Co, 11.18% (11.29). 表征数据与文献相

符。

## **4.4** 实验方法

碱基溶液的配制：

Guanine（鸟嘌呤）溶液的配制

取0.0152g鸟嘌呤，用二次蒸馏水溶解（可滴加几滴盐酸）定容10 mL后，稀释至浓度为5.010-4 mol∙L-1。

Cytosine（胞嘧啶）溶液的配制

取0.0112g胞嘧啶溶，用二次蒸馏水溶解（可滴加几滴盐酸）定容10 mL后，稀释至浓度为5.010-4 mol∙L-1。

Adenine（腺嘌呤）溶液的配制

-43-

取0.0171g腺嘌呤溶，用二次蒸馏水溶解（可滴加几滴盐酸）定容10 mL后，稀释至浓度为5.010-4 mol∙L-1。

配合物溶液的配制：

分别取0.0192 g Mn-L1、0.0211 g Mn-L2、0.0197 g Mn-L3、0.0200 g Mn-L4、0.0193 g Co-L1、0.0213 g Co-L2、0.0202 g Co-L3、0.0204 g Co-L4于烧杯中， 加

入二次蒸馏水溶解，定容至100 mL，使其浓度为4.010-4 mol∙L-1的配合物溶液（现配现用）。

荧光光谱的测定：取配制好的碱基溶液2.0 mL于专用石英比色皿中，置于荧

光槽中。激发和发射谱狭缝宽度均为10 nm，扫描电压700 V，扫描速度1200 nm∙min-1。先以280 nm激发，记录发射谱300-500 nm，选出最佳发射谱，再由此找出最佳激发谱。以微量注射器等量加入配合物溶液50L，搅拌均匀后静置5

min，扫描记录配合物加入后荧光强度的变化。

## **4.5** 结果与讨论

配合物与碱基结合，荧光光谱会发生变化，定性说明了配合物与碱基之间发生了某种方式的作用，因此，在配合物的存在下碱基的发光增强或减弱都可能是配合物与碱基发生较强结合的证据。

实验发现，配合物对碱基的荧光有明显的猝灭作用。随着配合物的加入，碱基的荧光强度逐渐减弱，见图3.1、3.2给出了部分配合物与碱基作用的荧光谱图，其它配合物与碱基作用谱图与之类似，只是猝灭率程度不同。

140

0

|  |  |
| --- | --- |
| [Q]\*105 | |
|  | 1.00 |
|  |
| 1.95 |
|  |
| 2.85 |
|  |
| 3.72 |
|  |
| 4.54 |
|  |
| 5.33 |
|  |
| 6.08 |
|  |
| 6.80 |
|  |

120

100

80

*I*

60

40

20

0

350 360 370 380 390 400 410 420 430 440 450

Wavelength/nm

-44 -

160

0

3.72

5.33

6.80

|  |  |
| --- | --- |
| [Q]\*105 | |
|  | 1.00  1.95  2.85 |
|  |
|  |
|  |
| 4.54 | |
| 6.08 | |
|  |  |

140

120

100

80

*I*

60

40

20

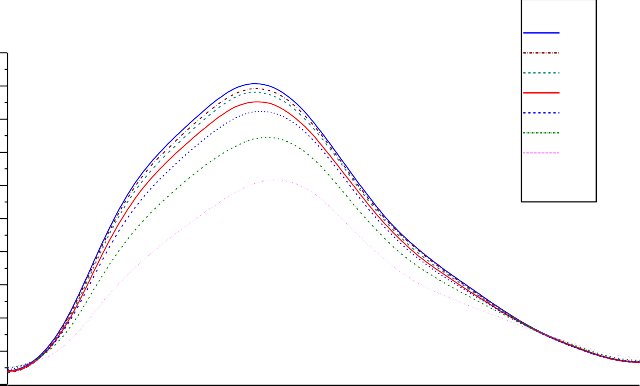
0

380 390 400 410 420 430 440 450

Wavelength/nm

图4.1 Mn-L1(上)及Co-L1 (下)与胞嘧啶的荧光猝灭曲线

Fig. 4.1 Fluorescence quenching curve of Mn-L1(up) and Co-L1(down) with Cytosine



[Q]\*105

0

1.00

1.95

2.85

3.72

4.54

5.33

6.08

6.80

200

180

160

140

120

Intensity

100

80

60

40

20

0

300 320 340 360 380 400 420 440 460 480 500

(Wavelength/nm)

[Q]\*105

0

1.00

1.95

2.85

3.72

4.54

5.33

6.08

6.80

80

70

60

50

40

Intensity

30

20

10

0

-10

325 350 375 400 425 450 475 500 525 550

Wavelength/nm

图4.2 Mn-L2(上)及Co-L2 (下)与腺嘌呤的荧光猝灭曲线

Fig. 4.2 Fluorescence quenching curve of Mn-L2(up) and Co-L2(down) with Adenine

可用下式计算荧光猝灭效率：

-45-

荧光猝灭效率＝*F*0－*F*f

*F*0

*F0*为未加入配合物时碱基的荧光强度，*F*f为比色皿加入配合物400L后的荧光强度。对8种配合物与碱基相互作用的荧光猝灭效率列表，见表4.1。

表4.1 8种配合物与碱基相互作用的荧光猝灭效率

Tab. 4.1 Fluorescence quenching efficiency of 6 kinds of complexes interactions with bases

| 碱基  金属配合物 | C | A | G |
| --- | --- | --- | --- |
| Mn-L1 | 0.8365 | 0.5473 | 0.5153 |
| Mn-L2 | 0.9073 | 0.8613 | 0.4418 |
| Mn-L3 | 0.8614 | 0.7790 | 0.7004 |
| Mn-L4 | 0.5856 | 0.5414 | 0.5534 |
| Co-L1 | 0.5303 | 0.5748 | 0.4389 |
| Co-L2 | 0.3038 | 0.1456 | 0.0968 |
| Co-L3 | 0.6143 | 0.8165 | 0.6486 |
| Co-L4 | 0.5630 | 0.4143 | 0.3833 |

分析表4.3发现，同一种Salen-金属配合物，对不同碱基的作用强度一般为胞嘧啶腺嘌呤鸟嘌呤。而对同一种碱基，不同的配合物作用强度也不相同。

当荧光是由于基态复合物的生成而猝灭时，一般可用Stern-Volmer方程来描述荧光的猝灭效率[11, 12]。

*F0/F*=1+Ks*[Q]*

根据Stern-Volmer方程，以配合物的浓度*[Q]*与荧光强度比值F0/F作用，可得*F*0/*F*与*[Q]*之间存在着明显的线性关系。以Mn-L1及Co-L1对胞嘧啶的荧光猝灭关系为例，其它配合物对碱基荧光猝灭关系与之类似，见图3.3。

-46 -

2.4

2.2

2.0

1.8

1.6

*F /F*

*0*

1.4

1.2

1.0

0 2 4 6 8 10

[Q]×105 (mol/L)

1.8

1.7

1.6

1.5

1.4

1.3

*F /F*

*0*

1.2

1.1

1.0

0.9

0 2 4 6 8

[Q]×105 (mol/L)

图3.3 Mn-L1(上)及Co-L1(下)与胞嘧啶的荧光猝灭Stern-Volmer 图

Fig. 3.3 Cytosine with Mn-L1(up) and Co-L1(down) Stern-Volmer plot

对配合物与碱基的Stern-Volmer方程进行线性拟合，其线性相关系数R均大于0.995，并且可得淬灭常数Ks，汇总得表3.2。

-47-

表4.2 8种配合物与碱基相互作用的淬灭常数

Tab. 4.2 Quenching constant of 8 kinds of complexes interactions with bases

| 碱基金属配合物 | C | A | G |
| --- | --- | --- | --- |
| Mn-L1 | 0.1515 | 0.1018 | 0.1017 |
| Mn-L2 | 0.1140 | 0.0561 | 0.0184 |
| Mn-L3 | 0.1435 | 0.0530 | 0.0364 |
| Mn-L4 | 0.1247 | 0.0511 | 0.0324 |
| Co-L1 | 0.0223 | 0.0192 | 0.0158 |
| Co-L2 | 0.0075 | 0.0062 | 0.0041 |
| Co-L3 | 0.0561 | 0.0579 | 0.0320 |
| Co-L4 | 0.0542 | 0.0518 | 0.0311 |

分析表4.2可得：

1. 同一配体的Salen-金属配合物对不同碱基的作用强度有胞嘧啶腺嘌呤鸟嘌呤，此顺序不随金属和配体的不同而发生变化，说明配合物对碱基呈现出一定的选择性。

2. 配体相同，而金属元素不同时，碱基猝灭常数不同，Mn的比Co的大，且差别明显，表明金属元素对配合物与碱基的作用影响较大。

由于中心离子Mn、Co都有未充满的d轨道，但Mn比Co多2个未充满的d轨道。使这些未充满的d轨道通过杂化组成杂化轨道与配位体提供的孤对电子形成

L→M的配键时，Mn比Co更容易与配位体进行配位。从而使得Salen- Mn比Salen-Co配合物对碱基的作用更加明显。

3. 当金属元素相同时，配体的结构也会影响配合物与碱基的作用，作用强度顺序为L1> L3> L2> L4，但这种差别较小。

4. 不同结构的Salen配合物对碱基的猝灭强度有非环状Salen配合物>环状

Salen配合物，呈现出配合物对碱基作用的选择性。

可见配合物对碱基荧光猝灭是整体效应，即与金属元素有关，也与配体结构有关。配合物带有正电荷，胞嘧啶有一个吸电子的羰基，但同时存在一个强的给电子的氨基，使电子密度増高，当配合物接近碱基胞嘧啶时，发生能量传递，而使得配合物对胞嘧啶有猝灭作用。对于嘌呤碱基，它是嘧啶环与咪唑环稠合而形成的环系，所以嘌呤可与Salen-金属配合物形成基态复合物而使荧光作用猝灭。环系増大的结果使得它与Salen-金属配合物作用时会受到空间位阻影响，而使荧光猝灭强度减弱。

-48 -

配合物与碱基结合，荧光光谱发生变化，说明了配合物与碱基之间发生了某种方式的作用。因此，在配合物的存在下碱基的发光强度的增强或减弱都可能是配合物与碱基发生较强结合的证据。

以上研究表明：Salen金属配合物不但可以与DNA发生作用，而且还可以与

DNA中的碱基发生作用，这种作用还表现出一定的选择性，这为我们更深入的研究和开发DNA的结构探针提出了新的思路。

-49-

参考文献

[1] Panchangam M K, Katreddi H R, Jay P P, Dayananda S. Synthesis, characterization, DNA binding and nuclease activity of binuclear copper(Ⅱ) complexes of cuminaldehyde thiosemicarbazones [J]. Transition Met Chem, 2008, 33: 661 -668.

[2] Barton J K. Simple coordinati on complexes: drugs and Probes for DNA structure [J]. Comments Jnorg Chem, 1985, 32(3): 321 -348.

[3] He Q, Zhou L X. Theoretical study on the interaction of platinum compounds with DNA base pairs [J]. Acta Phys. –Chim. Sin., 2005, 21(8): 846 -851.

[4] Géral dine V, Gaëlle F, Mare B, et al. DNA modification by oxovanadium(IV) complexes of salen derivatives [J]. J boil inorg Chem, 2004, 9: 345 -353.

[5] 文美琼, 高云涛, 罗永刚, 等. 四环素-铜(Ⅱ)配合物与DNA相互作用的吸收光谱研究[J]. 感光科学与光化学, 2005, 23(1): 71-78.

[6] 彭斌, 周文辉, 谭凤娇, 刘汉文. 基于水杨醛的手性Salen-Mn(Ⅲ)配合物与DNA相互作用研究[J]. 湖南科技大学学报(自然科学版), 2008, 23(2): 98 -101.

[7] Peng B, Zhou W H, Yan L, Liu H W, Zhu L. DNA -Binding and cleavage studies of chiral Mn( Ⅲ) salen complexes [J]. Transition Met Chem, 2009, 34: 231 -237.

[8] 彭斌, 刘晓林, 仇明华, 等. 含萘环结构Salen- Mn(Ⅲ)和Salen - Co(Ⅲ)配合物与DNA 的相互作用研究 [J]. 湖南科技大学学报(自然科学版), 2010, 25(1): 98-101.

[9] 彭斌, 杜程, 韩冬. 不同价态的金属-Salen配合物与DNA的相互作用 [J]. 湖南科技大学学报(自然科学版), 2012, 27(3): 91 -95.

[10] 何贤玲. 2–羟基萘醛类schiff碱及其过渡金属配合物的合成、表征及抑菌活性研究[D]. 西安: 西北大学, 2008.

[11] Ambroziak K, Rozwadowski Z, Dziembowska T, et al. Synthesis and spectroscopic study of schiff bases derived from trans - 1, 2 - diaminocyclohexane deuterium isotope effect ob 13C chemical shift [J]. J Mol Struc, 2002, 615 (26): 109 -120.

[12] Lakowicz J R. Principles of fluo rescence Spectroscopy [M]. NewYork: Plnum Press, 1983. 265.

-50 -

# 第五章 结论与展望

通过量阅大量文献，对希夫碱类包括Salen化合物做了全面的综述。通过系列的探索实验，对醚桥链环状Salen-金属配合物的合成及其与DNA的相互作用做了初步研究。

## **5.1** 结论

以2-羟基-1-萘醛和烷基二溴（1, 4-二溴丁烷，1, 5-二溴戊烷）合成2种对称双醚链中间体，再分别与1, 3-丙二胺反应生成2种醚链桥联环状Salen配体，进而分别与醋酸锰、醋酸钴、醋酸铜及醋酸锌四种醋酸盐配位形成8个环状Salen金属配合物。8种配合物对DNA的作用都有插入作用特征。对于同种配体作用强弱有

L-Mn> L-Co> L-Cu> L- Zn，这可能与中心离子都带正电性，易于与带负电的

DNA大阴离子结合，进而影响配合物与DNA作用方式为插入作用。对于同种中心离子不同配体作用强度有dnpp-M> dnbp-M，这可能与dnpp有更长的柔性臂有关。

以2-羟基-1萘甲醛为原料，通过缩合反应合成了N，N'-双（2-羟基-1-萘甲醛）缩邻苯二胺、乙二胺和1, 3-丙二胺的3种Salen配体及其与Mn、Co形成的6种配合物，探究了它们对碱基的荧光猝灭效应。Salen-金属配合物对碱基胞嘧啶、腺嘌呤、鸟嘌呤在水中的荧光有明显的猝灭作用。同一种配合物对碱基的作用强度为胞嘧啶>腺嘌呤>鸟嘌呤，Mn配合物比Co更易使碱基发生荧光猝灭。当Salen-金属配合物与DNA作用时，可能不仅只是一种插入作用，而且还可能与DNA中的碱基发生了一定的作用，这种作用随着中心离子和碱基不同而不同，呈现出配合物对碱基作用的选择性。配体的结构对荧光的猝灭也有影响。对于配合物与碱基的作用机理还需要进行更深入的实验研究。

## **5.2** 展望

醚桥链环状Salen-金属配合物的研究尚少，还需要做大量的工作，主要可以从以下几方面展开：

1. 在合成醚桥链二醛中间体时，增加二卤代烷的种类，以设计有功能目标的醚桥链环状Salen-金属配合物。

2. 在合成醚桥链环状Salen配体时，改变二胺化合物的种类，改变环状Salen

的空间结构，探索其生物学性质。

3. 改变中心离子种类，可尝试稀土盐与醚桥链环状Salen配体进行配位，以

-51-

期更好的生物活性。

4. 可以与计算化学及计算机辅助药物设计(CADD)相结合，探索醚桥链环状

Salen配合物与DNA的作用情况，改进分子构型。

-52 -

致 **谢**

在本文即将完成之际，我仅以我最诚挚的心感恩于我的导师彭斌教授。

本文是在彭斌教授悉心指导下完成的。从整篇论文的选题和设计实验的过程，到最后实验数据的整理，实验结果的分析，无不凝结了导师的心血。导师知识之广博，学术思想之敏锐，教学之严谨，工作态度之认真，人格魅力之率直都在我心中留下了深深的烙印，这是我一辈子的财富，对我以后到工作岗位的影响亦是受益无穷的。

感谢曹晨忠校长、易平贵院长、刘汉文书记、唐子龙副院长、蒋立平书记、刘胜利老师、李大塘老师、焦迎春老师、陶洪文老师等以及湖南科技大学化学化工学院所有老师对我学习上的指导和生活上的帮助！

感谢师兄杜程、黄ft，师姐王琳艳在平时实验对我的热心帮助和指导。感谢所有关心和帮助我的老师和朋友！

特别感谢我的家人在我学习，生活上的永恒支持。

-53-

-54 -

**附录A**：攻读学位期间发表的学术论文

[1]彭斌, 韩冬. Salen-金属配合物与DNA中碱基的相互作用[J]. 湖南科技大学学报. (已录用)

[2]彭斌, 杜程, 韩冬. 不同价态的金属-Salen配合物与DNA的相互作用[J]. 湖南科技大学学报. 2012, 27(3): 91-95.

-55-

-56 -

**附录B**：部分谱图



An2



dnpp

-57-

%T

%T

3448.43

2937.07

2871.98

1619.60

1590.98

1565.50

1564.26

1481.251458.48

1458.23

1406.121374.55

1406.631374.73

1219.97

1219.32

1178.26

1078.671061.79

1022.61

945.75

862.44

758.60 744.67 709.65

655.94

570.90

503.79

dnbp-Co

100

95

90

85

80

75

70

65

60

55

400 0

350 0

300 0

250 0

200 0

150 0

100 0

500

W av enu mber s ( c m- 1)

3422.70

2939.10

2876.28

2802.41

1668.64

1511.741480.70

1436.96

1364.211342.54

1267.851245.69

1177.741153.50

1078.011060.85

1021.80

946.75

863.11

759.48 745.44 710.39

656.86

571.45

523.15 504.66

804.33 773.67

Dnbp-Cu

100

90

80

70

60

50

40

30

20

10

-0

400 0

350 0

300 0

250 0

200 0

150 0

100 0

500

W av enu mber s ( c m- 1)

1668.02

1620.97

1591.66

1512.30

1437.37

1364.751343.49

1268.091245.73

1199.09

1153.90

805.44 774.03

-58 -

%T

%T

3441.56

2936.55

2936.42

2875.86

2832.19

1560.57

1477.231458.67

1436.39

1341.33

1418.931376.12

1181.15

1156.48

1104.631085.331065.98

1104.391086.051065.93

5

1021.77

861.47

775.00

711.28

650.66

569.72

525.38

765.61755.04746.31

746.71

dnpp-Mn

100

90

80

70

60

50

40

30

20

10

0

- 10

400 0

350 0

300 0

250 0

200 0

150 0

100 0

500

W av enu mber s ( c m- 1)

3448.46

3050.52

2875.73

2832.61

1666.961652.881644.411618.06

1591.16

1512.601458.44

1436.92

1342.66

1565.84

1375.27

1269.42

1249.04

1213.801180.08

1156.46

1025.0 995.37

949.39

861.42

775.06

711.47

650.28

547.43

807.79

dnpp-Zn

100

95

90

85

80

75

70

65

60

55

50

45

40

35

30

400 0

350 0

300 0

250 0

200 0

150 0

100 0

500

W av enu mber s ( c m- 1)

1666.811644.561618.59

1591.04

1512.31

1269.05

1249.01

808.39

-59-