

手性双核钌(II)配合物与 DNA 的相互作用研究

袁益娴 陈 禹 王贻灿 梁思敏 巢 晖* 计亮年*

(中山大学化学与化学工程学院, 生物无机与合成化学教育部重点实验室, 广州 510275)

摘要: 本文合成了 1 对手性双核钌(II)配合物 $\Delta\Delta$ -和 $\Lambda\Lambda$ -[(bpy)₂Ru(mbpibH₂)Ru(bpy)₂](ClO₄)₄ (bpy=2,2'-联吡啶, mbpibH₂=1,3-二(咪唑并[4,5-f][1,10-邻菲咯啉])苯)。通过元素分析、质谱、核磁共振、CD 光谱对这两个化合物进行了结构表征。采用循环伏安法对配合物的电化学性质进行了分析。利用紫外-可见吸收光谱滴定、荧光光谱滴定、稳态荧光淬灭和粘度实验研究了配合物与 DNA 的相互作用, 实验结果表明这 2 个配合物都能以插入的方式与 DNA 键合, 而且 $\Delta\Delta$ 配合物的 DNA 结合强度稍强于 $\Lambda\Lambda$ 配合物。

关键词: 钌(II)配合物; 手性配合物; DNA 键合

中图分类号: O614.82⁺1; Q523⁺.4

文献标识码: A

文章编号: 1001-4861(2008)08-1265-07

Interaction between DNA and Chiral Dinuclear Ru(II) Complexes

YUAN Yi-Xian CHEN Yu WANG Yi-Can LIANG Si-Min CHAO Hui* JI Liang-Nian*

(School of Chemistry and Chemical Engineering, MOE Laboratory of Bioinorganic and Synthetic Chemistry, Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510275)

Abstract: The enantiomerically-pure chiral dinuclear Ru(II) complexes $\Delta\Delta$ - and $\Lambda\Lambda$ -[(bpy)₂Ru(mbpibH₂)Ru(bpy)₂](ClO₄)₄ (bpy=2,2'-bipyridine, mbpibH₂=1,3-bis([1,10]phenanthroline-[5,6-d]imidazol-2-yl)benzene) were synthesized and characterized by elemental analysis, MS, ¹H NMR and CD spectra. The electrochemical behaviors of the complexes have been studied by cyclic voltammetry. Binding of the complexes with CT-DNA has been investigated by absorption titration, luminescence titration, steady-state emission quenching and viscosity experiments. The results indicate that both the enantiomers can intercalate into CT-DNA while the binding ability of $\Delta\Delta$ is stronger than that of $\Lambda\Lambda$.

Key words: Ru(II) complexes; chiral complexes; DNA binding

0 引 言

核酸是生物体的重要组成物质,它在生物的生长、发育和繁殖等正常生命活动起着重要作用,并与致癌等生命的异常情况密切相关。研究核酸,尤其是 DNA 的结构与功能的关系,受到了人们极大的关注。自从 20 世纪 80 年代初期美国化学家 Barton 等发现 Zn²⁺、Co³⁺、Ru²⁺等配位饱和的八面体

手性配合物具有识别 DNA 二级结构的能力以来,金属配合物与 DNA 的识别与结合已成为近年来生物无机化学十分活跃的研究领域^[1-3]。值得注意的是,以上这些研究工作主要是围绕单核金属多吡啶配合物展开的。而对以磷酸酯为底物的天然金属酶的研究证实:DNA 聚合酶 I、P1 核酸酶、磷酸酯酶 C、碱性磷酸酯酶、核酶(ribozyme)等多种天然金属酶均含有 2 个或更多个金属离子。在有机体系与 DNA

收稿日期:2008-05-21。收修改稿日期:2008-06-14。

国家自然科学基金(No.20571089,20771105)、973 计划(No.2007CB815306)、教育部新世纪优秀人才支持计划(No.NCET-06-0718)、教育部科学技术研究重点项目(No.108103)和教育部留学回国人员科研启动基金项目资助。

*通讯联系人。E-mail:ceschh@mail.sysu.edu.cn;cesjln@mail.sysu.edu.cn

第一作者:袁益娴,女,26 岁,博士研究生;研究方向:生物无机化学。

的相互作用研究中,人们大多是选择一些双功能有机化合物来作为结构探针,以期增强序列专一性和亲和力。受此启发,生物无机化学家开始将目光投向含有双核或多核的超分子金属配合物。和单核金属配合物相比,双核金属配合物具有更大的电荷数,构型和大小也更具有可变性。设计、合成手性双核配合物,可以进一步增强配合物对 DNA 的亲合力和识别序列专一性^[4-9]。本文合成了 1 对手性双核钌(II)配合物 $\Delta\Delta$ -[(bpy)₂Ru(mbpibH₂)Ru(bpy)₂](ClO₄)₄ (**1**)和 $\Lambda\Lambda$ -[(bpy)₂Ru(mbpibH₂)Ru(bpy)₂](ClO₄)₄ (**2**)(bpy=2,2'-联吡啶,mbpibH₂=1,3-二(咪唑并[4,5-f][1,10-邻菲咯啉])苯),配合物的结构见图 1。通过元素分析、质谱、核磁共振和 CD 光谱对这 2 个化合物进行了结构表征。利用紫外可见光谱滴定实验、稳态荧光光谱滴定、稳态荧光猝灭和粘度实验,具体研究了配合物与 DNA 的相互作用。

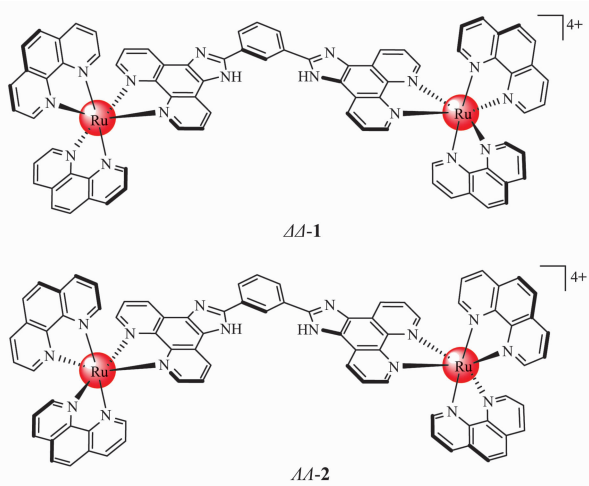


图 1 钌(II)配合物的结构图

Fig.1 Molecular structure of Ru(II) complexes

1 实验部分

1.1 试剂及仪器

配体 1,3-二(咪唑并[4,5-f][1,10-邻菲咯啉])苯(mbpibH₂)^[10]、 Δ -[Ru(bpy)₂(py)₂][O, O'-dibenzoyl-D-tartrate]·12H₂O^[11]和 Λ -[Ru(bpy)₂(py)₂][O, O'-dibenzoyl-D-tartrate]·12H₂O^[11]参照文献制备,2,2'-联吡啶(bpy)购自美国 Aldrich 公司,琼脂糖凝胶、溴酚蓝、三羟甲基氨基甲烷(Tris)购自美国 Sigma 公司,小牛胸腺 DNA (CT-DNA)、pBR322 DNA 购自上海生工生物工程公司,其余均为市售分析纯试剂,用前未做进一步处理。配制缓冲溶液均用双蒸水,所有实验用的缓冲溶液均为含有 5 mmol·L⁻¹ Tris 和 50 mmol·L⁻¹

NaCl (pH=7.0) 的 Tris-HCl 缓冲液。适量小牛胸腺 DNA 溶于上述 Tris-HCl 缓冲溶液中,其浓度用 260 nm 处的吸光度确定 ($OD_{260}/OD_{280}>1.86$, $\epsilon_{260\text{ nm}}=6\ 600\text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$)^[12]。

元素分析(C、H、N)用 Elementar Vario EL 元素分析仪测定。电子吸收光谱用 Perkin Elmer Lambda850 紫外分光光度计记录。荧光光谱用 Perkin Elmer Ls55 荧光光谱仪记录。圆二色(CD)谱用 JASCO-J810 圆二色谱仪记录。核磁共振波谱用 Varian 500 MHz 核磁共振波谱仪记录。电极电位用循环伏安法测定,使用上海辰华 CHI660 电化学工作站。三电极系统,工作电极和辅助电极均为铂电极,参比电极为饱和甘汞电极(SCE)。扫描速度为 200 mV·s⁻¹。溶剂为无水乙腈,支持电解质为高氯酸四丁基铵(TBAP)(A.R.,Fluka),浓度为 0.1 mol·L⁻¹。测定前通氮除氧 20 min,测定时液面保持氮气气氛。实验在室温下进行。

1.2 配合物的合成

1.2.1 $\Delta\Delta$ -[(bpy)₂Ru(mbpibH₂)Ru(bpy)₂](ClO₄)₄ (**1**)的合成

称取 Δ -[Ru(bpy)₂(py)₂][O, O'-dibenzoyl-D-tartrate]·12H₂O(0.60 g, 0.6 mmol)和 mbpibH₂(0.15 g, 0.3 mmol)溶于 20 mL 的乙二醇。氩气保护下于 120 °C 反应 10 h,冷却至室温后加水稀释。向滤液中加入饱和 NaClO₄ 溶液即产生大量红色沉淀。抽滤,沉淀分别用水、乙醚洗涤数次后干燥。然后将干燥好的粗产品用少量乙腈溶解,过中性氧化铝(74 μm (200 目))柱分离, $V_{\text{乙腈}}:V_{\text{乙醇}}=2:1$ 的混合溶剂淋洗下主要红色组分。最后得暗红色微晶,产率 56%。元素分析:实验值(%):C 47.93, H 3.15, N 12.30; 按 C₇₂H₅₆N₁₆O₁₉Cl₄Ru₂ 的计算值(%):C 48.21, H 3.12, N 12.49。 ¹H NMR (500 MHz, d₆-DMSO): δ 9.43(s, 1H), 9.17(br, 4H), 8.91(d, 4H, $J=8.5$), 8.87(d, 4H, $J=8.5$), 8.49(br, 2H), 8.21(t, 4H, $J_1=J_2=8.5$), 8.10(t, 4H, $J_1=J_2=8.5$), 7.86~7.89(m, 4H), 7.78~7.83(br, 4H), 7.58~7.63(m, 8H), 7.38(t, 4H, $J_1=J_2=7$)。ES-MS: [CH₃CN; m/z]=770 ([M-2ClO₄]²⁺), 479 ([M-3ClO₄]³⁺), 447 ([M-4ClO₄-H]³⁺), 336 ([M-4ClO₄]⁴⁺)。CD (λ/nm ($\Delta\epsilon/(\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1})$)) (CH₃CN): 475(-6.1), 424(5.9), 295(-92.7), 280(39.1)。

1.2.2 $\Lambda\Lambda$ -[(bpy)₂Ru(mbpibH₂)Ru(bpy)₂](ClO₄)₄ (**2**)的合成

合成和提纯方法与配合物 **1** 相同,只是用 0.60 g (0.6 mmol) 的 Λ -[Ru(bpy)₂(py)₂][O, O'-dibenzoyl-L-

tartrate]·12H₂O 代替 Δ -[Ru(bpy)₂(py)₂][O, O'-dibenzoyl-D-tartrate]·12H₂O。产率 58%。元素分析:实验值(%):C 47.97, H 3.16, N 12.31; 按 C₇₂H₅₆N₁₆O₁₉Cl₄Ru₂ 的计算值(%):C 48.21, H 3.12, N 12.49。¹H NMR(500 MHz, d₆-DMSO): δ 9.44 (s, 1H), 9.19 (br, 4H), 8.90(d, 4H, $J=8.5$), 8.88 (d, 4H, $J=8.5$), 8.52 (br, 2H), 8.23(t, 4H, $J_1=J_2=8.5$), 8.09 (t, 4H, $J_1=J_2=8.5$), 7.86~7.90(m, 4H), 7.79~7.86(br, 4H), 7.59~7.63(m, 8H), 7.38(t, 4H, $J_1=J_2=6.5$)。ES-MS: [CH₃CN, m/z]=770([M-2ClO₄)²⁺], 479([M-3ClO₄)³⁺], 447([M-4ClO₄-H]³⁺), 336([M-4ClO₄)⁴⁺)。CD (λ /nm ($\Delta\epsilon$ /(L·mol⁻¹·cm⁻¹)))(CH₃CN): 475(5.8), 423(-6.0), 294(93.8), 280(-38.7)。

1.3 配合物和 DNA 作用的电子吸收光谱

在紫外可见光谱仪中, 参比池中加入 3 mL 的缓冲液, 在样品池中加入同样体积的 10 μ mol·L⁻¹ 的配合物溶液, 用微量加样器每次往参比池和样品池中分别加入相同体积的 DNA 溶液, 使 DNA 与配合物浓度比值($C_{\text{DNA}}/C_{\text{Complex}}$)按一定的比例递增直至饱和, 即 MLCT 吸收峰不再减色为止。每次混合均匀约 5 min 后, 在 200~800 nm 范围监测配合物的电子吸收光谱变化。

1.4 配合物和 DNA 作用的荧光光谱

配制配合物溶液 (10 μ mol·L⁻¹), 用微量加样器每次往样品池中加入相同体积的 DNA 溶液, 使 DNA 与配合物浓度比值($C_{\text{DNA}}/C_{\text{Complex}}$)按一定的比例递增, 直至饱和。每次混合均匀约 5 min 后, 在 500~800 nm 范围监测配合物的荧光光谱变化。用 450 nm 光源激发, 记录发射光波峰和发光强度。

1.5 配合物与 DNA 混合液的荧光淬灭实验

配制配合物和 DNA 的混合溶液。 $C_{\text{Complex}}=5$ μ mol·L⁻¹, $C_{\text{DNA}}/C_{\text{Complex}}=40:1$ 。配制高浓度[Fe(CN)₆]⁴⁻溶液, 往配合物和 DNA 混合溶液中每次加入同体积的[Fe(CN)₆]⁴⁻溶液, [Fe(CN)₆]⁴⁻浓度在 0~1 mmol·L⁻¹ 之间变化。每次混合均匀约 5 min 后, 分别测量荧光光谱, 记录荧光强度。 I_0 为 $C_{\text{Complex}}/C_{\text{DNA}}=0$ 时的荧光强度, 以荧光强度比 I_0/I 对淬灭剂浓度作图。

1.6 DNA 粘度测试实验

粘度用乌氏粘度计测量, 温度恒定在 (29±0.1) °C。测试液按固定 DNA 的浓度, 逐渐增加 Ru(II) 配合物浓度的方法配制。相对粘度按下式计算^[13]: $\eta=(t-t_0)/t_0$ 。式中, t_0 为缓冲液流经毛细管所需的时间, t 为 DNA 溶液(含浓度不等的钌配合物)流经毛细管所需的时间。以 $(\eta/\eta_0)^{1/3}$ 对比 $r(r=C_{\text{Complex}}/C_{\text{DNA}})$ 作图。 η_0

为未加钌配合物时 DNA 溶液的相对粘度。

2 结果与讨论

2.1 配合物的合成与拆分

配合物的合成通过手性前体[Ru(bpy)₂(py)₂]²⁺与配体反应而制得。在反应过程中能保持配合物的绝对构型不发生改变。该法已被广泛用于制备对映体纯的单核及多核钌配合物^[14-16]。配合物的对映体纯度经 CD 光谱检测 (图 2), 配合物 **1** 和 **2** 在 295 nm 处均展现了典型的 π - π^* 瞬态激发子相互作用 (excitonic interaction)^[17], 在可见区展现了金属到配体的 $d_{\pi} \rightarrow \pi^*$ 荷移跃迁 (metal-ligand charge transfer, MLCT) 带的 2 个 Cotton 效应^[18]。数据表明 $\Delta\Delta$ 和 $\Lambda\Lambda$ 异构体的摩尔椭圆度数值上基本相等, 而符号相反。

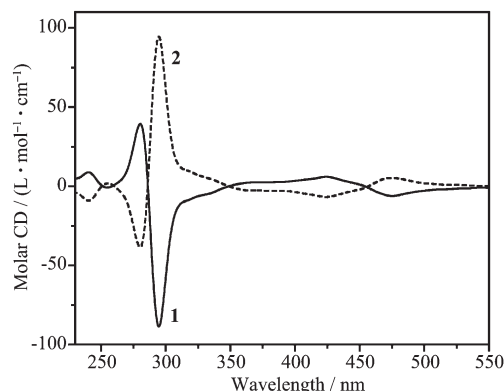


图2 手性配合物 **1** 和 **2** 的 CD 谱图

Fig.2 CD spectra of complexes **1** and **2**

2.2 配合物的电化学性质

钌多吡啶类配合物的氧化一般都是 Ru(II) 的 d 轨道失去 1 个电子, 变成 Ru(III)。金属中心氧化还原电势的高低取决于配体的电子结构性质, 一般当配体吸电子能力较强或共轭程度增大时, 低氧化态金属中心更容易稳定存在, 电极电位有增大的趋势。当有几个不同配体时, 负电位区将出现多个还原波。具有最低未占轨道(LUMO)的配体将优先得到电子被还原, 随后其余配体以 LUMO 能量的高低依次得到电子^[19]。

表 1 为 2 个钌配合物的用循环伏安法测定的氧化-还原电位数据。从数据看, 2 个手性异构体的氧化还原电位几乎一致。在 +2.0~-2.0 V 的扫描范围内, 循环伏安图中都呈现了 1 个氧化峰和 3 个还原峰。第 1 个还原电位可归属于桥连配体 mbpibH₂, 因为 Ru(bpy)₃²⁺ 的第 1 个还原电位是在 -1.35 V 处^[20], 第 2、第 3 可逆还原电位分别是 -1.35 和 -1.59 V, 是

由随后 2 个 bpy 配体先后得电子引起的。对于双核配合物而言,其氧化性质可以用来衡量配合物中金属之间相互作用的大小^[21]。如果不存在金属金属相互作用,那么在对称同双核配合物中,2 个金属中心将在相同的电位处展示氧化峰;如果金属之间可以通过桥连配体相互作用,由于金属中心的氧化过程互有影响,2 个金属中心将在不同的电位处展示氧化峰。对于我们合成的这两个配合物,配合物的金属中心之间氧化电位值基本没有差别,表明金属金属之间相互作用很小,甚至到了忽略不计的程度。

表 1 钌(II)配合物的氧化还原电势数据

Table 1 Redox potentials of Ru(II) complexes

Complexes	E_{ox} / V		E_{red} / V	
	I	I	II	III
$Ru(bpy)_3^{2+}$ ^[20]	1.28	-1.32	-1.52	-1.77
1	1.31	-0.66	-1.25	-1.50
2	1.31	-0.65	-1.25	-1.49

All complexes were measured in $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NBu}_4\text{ClO}_4$ -MeCN, error in potentials is 0.02 V, scan rate is $100 \text{ mV} \cdot \text{S}^{-1}$.

2.3 配合物与 DNA 相互作用的电子吸收光谱

电子吸收光谱是研究小分子化合物与 DNA 相互作用的常用方法。由于八面体钌(II)配合物具有丰富的与金属-配体荷移跃迁(MLCT)有关的电子吸收性质,通常配合物与 DNA 结合后会导致其配体所处环境发生改变,结合强弱可通过光谱扰动的变化反映出来。一般说来,当小分子以插入方式进入 DNA 双螺旋碱基对时,其吸收光谱表现出峰位的红移及减色效应。

配合物与 DNA 作用的滴定吸收光谱如图 3 所示。与 DNA 作用后,配合物 **1** 和 **2** 的 MLCT 峰红移都为 2 nm, 减色率分别为 15.5% 和 15.0%; 而 286 nm 处的 $\pi-\pi^*$ 跃迁峰的减色更明显, 配合物 **1** 和 **2** 分别为 28.3% 和 27.2%。这些光谱变化表明配合物与 DNA 之间存在较强的相互作用。

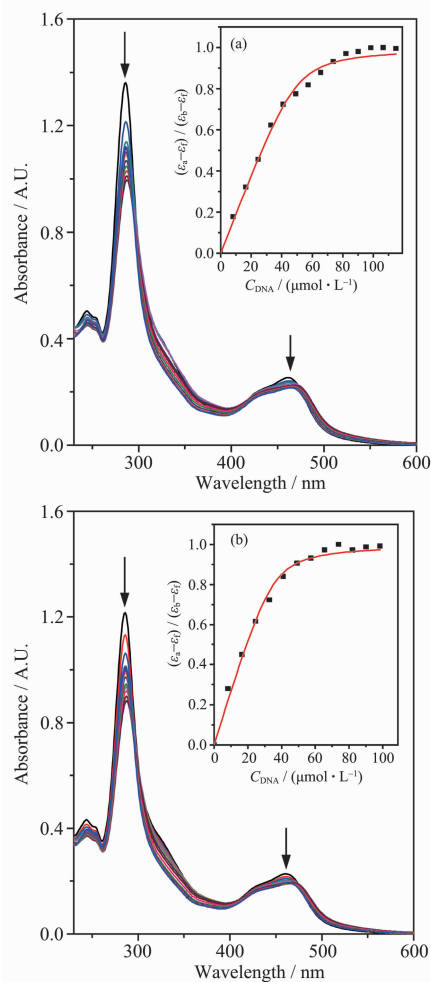
为了定量比较配合物与 DNA 的结合强弱,通过吸收光谱滴定实验,以配合物 **1** 和 **2** 分别在 MLCT 峰 461 和 460 nm 的吸光度的变化,按下列方程式^[22]分别算出配合物与 DNA 作用的结合常数 K 。

$$(\varepsilon_a - \varepsilon_f) / (\varepsilon_b - \varepsilon_f) = [b - (b^2 - 2K^2 C_t C_{\text{DNA}} / s)^{1/2}] / 2KC_t$$

$$b = 1 + KC_t + KC_{\text{DNA}} / 2s$$

式中 C_{DNA} 代表 DNA 的浓度, ε_f 、 ε_a 和 ε_b 分别代表配合物在游离时、与各浓度 DNA 结合时和与 DNA 结合饱和时的摩尔吸光系数, C_t 代表配合物总

浓度, s 为键合位点的大小, K 为拟合的结合常数。配合物 **1** 和 **2** 与 DNA 作用的结合常数分别为 1.02×10^6 和 $7.6 \times 10^5 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$ 。与以插入方式与 DNA 结合的钌(II)配合物 $[Ru(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$ (其 Λ 和 Δ 型异构体与 CT-DNA 的结合常数分别为 1.7×10^6 和 $3.2 \times 10^6 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$)^[23]、双核配合物 $[(\text{bpy})_2\text{Ru}(\text{ebipch}_2)\text{Ru}(\text{bpy})_2]^{4+}$ ($K = 1.31 \times 10^6 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$)^[9] 的结合常数都很接近, 由于手性构型的差异, 配合物 **1** 与 DNA 的作用要强于配合物 **2**。



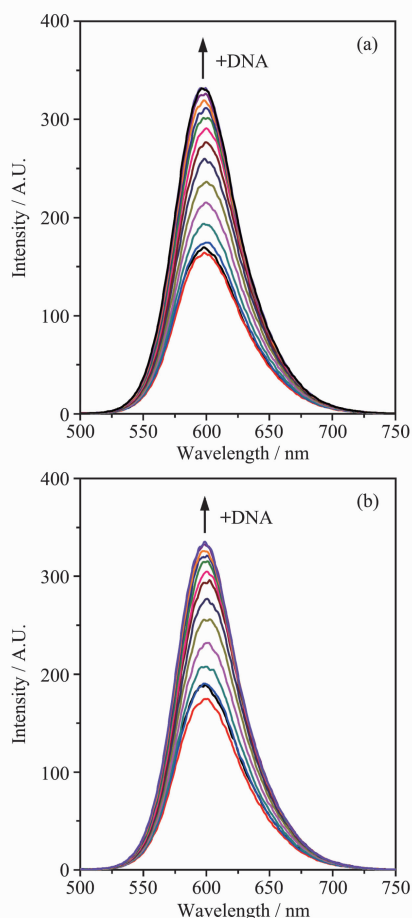
$C_{\text{Complex}} = 20 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, $C_{\text{DNA}} = 0 \sim 120 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$; Arrow shows the absorbance changes upon the increase of DNA concentration

图 3 配合物 **1**(a)和 **2**(b)的紫外 CT-DNA 滴定光谱图
Fig.3 Absorption spectra of complexes **1** (a) and **2** (b) upon addition of CT-DNA

2.4 配合物与 DNA 相互作用的荧光光谱研究

荧光法是一种比较灵敏的测试方法,广泛用于研究配合物与 DNA 的相互作用。钌(II)多吡啶配合物与 DNA 相互作用后,由于 DNA 保护配合物免受溶剂分子的淬灭,导致荧光增强。荧光增强幅度的

大小,一般反映配合物与 DNA 作用的强弱,但不能作为配合物是否以插入方式与 DNA 结合的判据。配合物 **1** 和 **2** 的荧光滴定曲线见图 4。在加入 DNA 后,配合物 **1** 和 **2** 荧光增强幅度分别为 1.9 和 1.77 倍。该结果证明配合物结合 DNA 后,水分子与配合物的接触和碰撞机会减小,同时还表明配合物 **1** 与 DNA 的作用强于配合物 **2**。



$C_{\text{Complex}}=20 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$; Arrow shows the intensity change upon the increase of DNA concentration

图 4 在无 DNA 和有 DNA 存在下配合物 **1**(a)和 **2**(b)的荧光强度变化图

Fig.4 Emission spectra of complexes **1** (a) and **2** (b) in the absence and presence of CT-DNA

2.5 配合物与 DNA 相互作用的稳态荧光淬灭研究

荧光淬灭实验可用来检测配合物与 DNA 相互作用,这一方法可作为配合物与 DNA 作用强弱的一种判据。在缓冲溶液中钕(II)多吡啶配合物以阳离子形式存在,其荧光易被高负电荷的 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ 淬灭,在一定浓度范围内的 Stern-Volmer 型淬灭曲线几乎是直线。当配合物与 DNA 发生有效结合后,配

合物受到 DNA 的保护,受保护程度越大,荧光越难被淬灭。例如 $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ 与 DNA 仅靠静电作用,未加 DNA 和加入 DNA 的配合物 $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ 荧光均能被 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ 有效淬灭,且两者的 Stern-Volmer 曲线都为直线,两直线斜率相近^[24],说明配合物 $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ 未受 DNA 有效保护。而配合物 $[\text{Ru}(\text{phen})_2\text{dppz}]^{2+}$ 与 DNA 以插入方式结合,在 DNA 存在时,其荧光不能被 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ 淬灭, Stern-Volmer 曲线近似为一条斜率为 0 的直线^[23]。

对配合物 **1** 和 **2**,在 $C_{\text{DNA}}/C_{\text{Complex}}=0$ 和 40 两种条件下的溶液分别用 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ 作淬灭剂进行对比研究,以加入和未加入淬灭剂的发光强度的比值 I_0/I 为纵坐标,淬灭剂浓度为横坐标,作出 Stern-Volmer 曲线。如图 5 所示,自由配合物的淬灭曲线基本满足 Stern-Volmer 方程式^[25]:

$$I_0/I=1+K_{\text{sv}} \cdot C_{[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}}$$

K_{sv} 为淬灭常数,是淬灭剂对发光淬灭有效程度的量度。在未加入 DNA 时,配合物发光减弱与 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ 的浓度增加成线性关系,即符合 Stern-Volmer 方程。配合物 **1** 和 **2** 的淬灭常数 K_{sv} 分别为 12 580 和 12 070 $\text{L} \cdot \text{mol}^{-1}$,配合物 **1** 的淬灭常数大于配合物 **2** 的淬灭常数。当 2 个配合物结合 DNA 后,它们的 Stern-Volmer 曲线的斜率都明显减小,表明配合物都受到 DNA 的保护而免于荧光的淬灭。此时配合物 **1** 和 **2** 的淬灭常数 K_{sv} 分别为 210 和 230

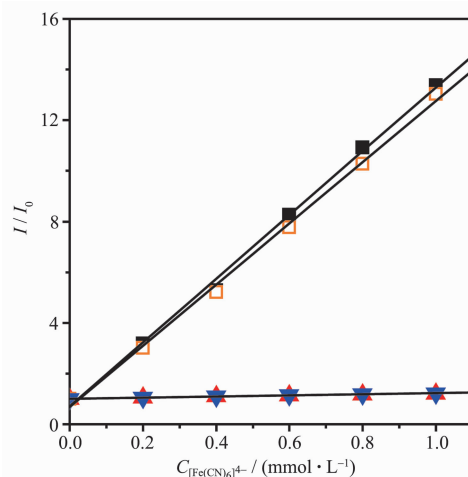


图 5 随着 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ 浓度增加,在无 DNA 和有 DNA ($C_{\text{DNA}}/C_{\text{Complex}}=40$)存在时配合物 **1** 和 **2** 的荧光淬灭曲线

Fig.5 Emission-quenching curves of the complexes with increasing concentration of quencher $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ for free(■) or DNA-bound (▲) complex **1** and free(□) or DNA bound (▼) complex **2**

$\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}$, 配合物 **1** 的淬灭常数小于配合物 **2** 的淬灭常数。一般来说, 当加入 DNA 后, 由于受到 DNA 的保护, 淬灭曲线斜率减少, 减少的程度反映了配合物与 DNA 的结合能力, 即曲线的斜率越大, 结合力越小。由以上数据可看出, 配合物 **1** 结合 DNA 的能力要大于配合物 **2**, 这个结果与紫外-可见滴定光谱的结果相符。

2.6 配合物与 DNA 作用的粘度法研究

光谱学方法对于确定配合物与 DNA 的作用模式只能提供必要的证据。在缺少高精度晶体结构数据的情况下, 粘度这种对 DNA 长度变化比较敏感的流体力学方法是检测溶液状态下配合物与 DNA 作用模式的最有效的重要手段^[24]。当小分子配合物通过配体以经典插入方式与 DNA 作用时, DNA 相邻碱基对的距离会变大以容纳插入配体, 导致 DNA 双螺旋伸长, DNA 溶液的粘度增加。当配合物以静电、沟面结合等非插入方式与 DNA 作用时, DNA 溶液的粘度无明显变化; 以部分插入方式与 DNA 作用时, 则可能使 DNA 双螺旋发生扭结, 使其粘度减小^[24]。

根据实验测得的流动时间数据计算出纯 DNA 溶液的相对粘度 η_0 以及加入配合物的 DNA 溶液的相对粘度 η , 以 $(\eta/\eta_0)^{1/3}$ 对 $C_{\text{Ru}}/C_{\text{DNA}}$ 作图, 实验结果见图 6。溴化乙锭(EB)是一种被广泛用来对 DNA 标记的荧光染料, 根据文献^[24], EB 已被证实是 DNA 的典型插入试剂, 其共轭芳香环平面能够完全插入到 DNA 的碱基对中去, 使 DNA 溶液的粘度几乎随 EB

浓度的增加呈线性增长。对照与 EB 结合的 DNA 溶液粘度变化, 虽然配合物对 DNA 粘度的影响不如 EB 明显, 从图可看出随着配合物浓度的增加, DNA 溶液粘度也随之增大。其变化的趋势也可以说明配合物 **1** 和 **2** 都是以插入的形式和 DNA 结合。同时配合物 **1** 的增幅稍大于配合物 **2**, 说明配合物 **1** 与 DNA 的作用比配合物 **2** 更强一些, 这与前面光谱滴定实验得出的结论一致。

3 结 论

通过元素分析、质谱、核磁共振、CD 光谱、循环伏安法对合成的 1 对手性双核 Ru(II) 配合物 $\Delta\Delta$ -[(bpy)₂Ru(mbpibH₂)Ru(bpy)₂](ClO₄)₄ 和 $\Lambda\Lambda$ -[(bpy)₂Ru(mbpibH₂)Ru(bpy)₂](ClO₄)₄ 进行了结构表征和电化学性质研究。利用紫外-可见吸收光谱滴定得到了配合物 **1** 和配合物 **2** 与 DNA 作用的结合常数分别为 1.02×10^6 和 $7.6\times 10^5 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}$; 利用荧光光谱滴定测得加 DNA 后配合物 **1** 和配合物 **2** 后在缓冲溶液中的荧光增幅分别为 1.9 和 1.77 倍; 利用 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ 为淬灭剂进行稳态荧光淬灭实验测得配合物 **1** 和配合物 **2** 淬灭常数分别为 210 和 230 $\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}$; 利用粘度实验研究了配合物与 DNA 的作用后 DNA 粘度的变化, 得到的结果是配合物 **1** 比配合物 **2** 更能使 DNA 粘度增加。以上实验结果都表明, 2 个双核配合物都以插入的方式与 DNA 键合。其中, 配合物 **1**($\Delta\Delta$ 构型) 的 DNA 键合能力强于配合物 **2**($\Lambda\Lambda$ 构型)。

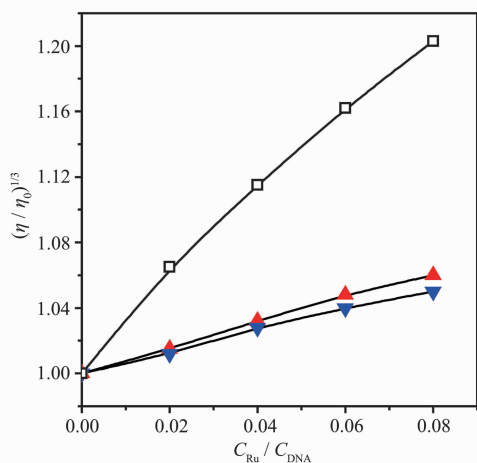


图 6 恒温 $29(\pm 0.1)^\circ\text{C}$, 当溶液中 $C_{\text{DNA}}=0.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 按照一定比例增加 EB 或配合物浓度得到的粘度变化图

Fig.6 Effect of increasing amounts of EB ($\square$), complex **1** ($\blacktriangle$) and complex **2** ($\blacktriangledown$) on the relative viscosity of CT-DNA at $29(\pm 0.1)^\circ\text{C}$, $C_{\text{DNA}}=0.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$

参考文献:

- [1] Demeunynck M, Bailly C, Wilson W D (Eds.). *DNA and RNA Binders: From Small Molecules to Drugs*. Weinheim: Wiley-VCH, 2003.
- [2] Ji L N, Zou X H, Liu J G. *Coord. Chem. Reviews*, 2001, 185: 711~733
- [3] CHAO Hui(巢 晖), GAO Feng(高峰), JI Liang-Nian(计亮年). *Progress in Chemistry (Huaxue Jinzhang)*, 2007, 19: 1844~1851
- [4] Lincoln P, Nordén B. *J. Chem. Soc., Chem. Comm.*, 1996: 2145~2146
- [5] Nordell P, Lincoln P. *J. Am. Chem. Soc.*, 2005, 127: 9670~9671
- [6] Aldrich-Wright J, Brodie C, Glazer E C, et al. *Chem. Commun.*, 2004: 1018~1019
- [8] Jiang C W, Chao H, Hong X L, et al. *Inorg. Chem. Commun.*, 2003, 6: 773~775

- [9] Liu F R, Wang K Z, Bai G Y, et al. *Inorg. Chem.*, **2004**,**43**: 1799~1806
- [10] Chao H, Ye B H, Li H, et al. *Polyhedron*, **2000**,**19**:1975~1983
- [11] Hua X, von Zelewsky A. *Inorg. Chem.*, **1995**,**34**:5791~5797
- [12] Marmur J. *J. Mol. Biol.*, **1961**,**3**:208~211
- [13] Cohen G, Eisenberg H. *Biopolymers*, **1969**,**8**:45~49
- [14] Morgan O, Wang S, Bae S A, et al. *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, **1997**:3773~3776
- [15] Keene F R. *Chem. Soc. Rev.*, **1998**,**27**:185~193
- [16] Gao F, Chao H, Wang J Q, et al. *J. Biol. Inorg. Chem.*, **2007**, **12**:1015~1027
- [17] Bosnich B. *Acc. Chem. Res.*, **1969**,**2**:266~273
- [18] Bosnich B. *Inorg. Chem.*, **1968**,**7**:2379~2386
- [19] Juris A, Balzani V, Barigelletti F, et al. *Coord. Chem. Rev.*, **1988**,**84**:85~277
- [20] Wang Y, Perez W J, Zheng G Y, et al. *Inorg. Chem.*, **1998**, **37**:2227~2234
- [21] Giuffrida G, Calogero G, Guglielmo G, et al. *Inorg. Chem.*, **1993**,**32**:1179~1183
- [22] Carter M T, Rodriguez M, Bard A. *J. Am. Chem. Soc.*, **1989**, **111**:8901~8911
- [23] Haq I, Lincoln P, Suh D, et al. *J. Am. Chem. Soc.*, **1995**, **117**:4788~4796
- [24] Satyanaryana S, Dabrowial J C, Chaires J B. *Biochemistry*, **1993**,**32**:2573~2584
- [25] Jenkins Y, Friedman A E, Turro N J, et al. *Biochemistry*, **1992**,**31**:10809~10816