

二苯基硫脲钴(III)配合物的合成、表征及其与 DNA 的作用

曹丰璞* 丁呈华 柳文敏 冯玉全 行文茹
(南阳师范学院化学与制药工程学院, 南阳 473061)

摘要: 合成了二苯基硫脲钴(III)配合物 $[\text{Co}(\text{DPTU})_3](\text{DMF})_3$ (DPTU=二苯基硫脲), 通过 IR 和元素分析等手段对其进行了表征, 并用 X 射线单晶衍射确定了其晶体结构。用电子吸收光谱、荧光光谱、粘度实验等方法研究了配体和配合物与 DNA 的相互作用。结果表明, 配体和配合物与 DNA 的作用既存在插入作用又存在静电结合模式。

关键词: 二苯基硫脲; 钴配合物; DNA; 插入作用; 静电结合

中图分类号: O614.81+2 文献标识码: A 文章编号: 1001-4861(2011)02-0343-05

Synthesis, Characterization and Study on the Interaction of DNA with Diphenylthiourea Cobalt(III) Complex

CAO Feng-Pu* DING Cheng-Hua LIU Wen-Min FENG Yu-Quan XING Wen-Ru
(College of Chemistry and Pharmaceutical Engineering, Nanyang Normal University, Nanyang, Henan 473061, China)

Abstract: A cobalt(III) complex with diphenylthiourea $[\text{Co}(\text{DPTU})_3](\text{DMF})_3$, where DPTU=diphenylthiourea, has been synthesized and characterized by IR, elemental analysis and X-ray diffraction methods. The Interactions of DNA with DPTU and complex have been investigated by absorption spectroscopy, fluorescence spectroscopy and viscosity. The studies suggested that the interaction of DPTU and complex with DNA belong to both partial intercalation and electrostatic interaction. CCDC: 800751.

Key words: diphenylthiourea; cobalt(III) complex; DNA; partial intercalation; electrostatic interaction

近年来, 小分子金属配合物与核酸等生物大分子相互作用的研究已引起人们的普遍关注, 对于金属配合物与 DNA 作用时引发的化学和生物效应, 一直是十分活跃的研究课题^[1-5]。硫脲衍生物及其配合物是一类重要的化学试剂, 已广泛应用于化学及化工生产的各个领域; 硫脲及其配合物具有良好的生物活性, 可以在药物化学中用于抗癌、抗菌剂的制备^[6-7]。钴是人体内一种必要的微量元素, 在生物体内均以配合物的形式存在。关于钴的配合物的研究在药理学、配位化学以及生物无机化学方面具有重要意义^[8-9]。我们设计并合成了以二苯基硫脲为配体的钴配合物, 并测定了其晶体结构, 具有这种配

体的钴配合物的晶体结构未见文献报道, 利用吸收光谱实验、荧光光谱实验、粘度实验研究了配体、配合物与鲑鱼精 DNA 的作用。通过研究表明配合物与 DNA 之间存在着相互作用, 为金属配合物在生物体内的药理作用提供初步的理论依据。

1 实验部分

1.1 仪器及试剂

Elementar Corporation Vario EL III 元素分析仪; Bruker Apex III 型 X 射线单晶衍射仪上; Thermo Nicolet 5700 红外光谱仪; Perkin-Elmer Lambda 650s 型紫外可见光谱仪; 乌氏粘度计 (毛细管内径 0.5~

收稿日期: 2010-07-05。收修改稿日期: 2010-10-25。

南阳师范学院高层次人才科研启动费、2009 年河南省教育厅科技攻关项目(No.200913150020)资助。

*通讯联系人。E-mail: caofpu99@163.com

0.6 mm)。

鲑鱼精 DNA, Sigma 公司进口分装; 二苯基硫脲、醋酸钴、*N,N*-二甲基甲酰胺(DMF)和其它试剂均为市售分析纯, 使用前未经进一步纯化。实验用水为二次蒸馏水。

研究配体和配合物与 DNA 相互作用时, 配体和配合物溶解在 DMF 中; DNA 用 $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Tris-HCl, $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl (pH=7.2) 缓冲溶液配制, 经 UV 谱测定 A_{260}/A_{280} 大于 1.8, 浓度以 $\epsilon_{260}=6\,600 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ 确定。

1.2 标题配合物的合成

准确称取 1 mmol 二苯基硫脲溶于 10 mL DMSO 中, 滴加 1 mmol $\text{Co}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 的无水乙醇 10 mL, 水浴加热, 55°C 下搅拌反应 4.5 h 有黑色浑浊出现, 过滤, 滤液中加入适量的 DMF, 在室温下缓慢挥发, 1 个月后得到紫黑色棒状单晶, 它可直接用于 X-射线衍射分析。按 $\text{C}_{48}\text{H}_{54}\text{CoN}_9\text{O}_3\text{S}_3$ 元素分

析理论值(%): C 60.24, H 5.37, N 13.17; 实测值(%): C 60.21, H 5.39, N 13.14。

1.3 配合物晶体结构测定

选取尺寸为 $0.31 \text{ mm} \times 0.25 \text{ mm} \times 0.20 \text{ mm}$ 的单晶样品, 采用 Bruker Smart Apex II CCD 单晶衍射仪, 用经石墨单色器单色化的 $\text{Mo K}\alpha$ 射线($\lambda=0.071\,073 \text{ nm}$), 在 $1.87^\circ \leq \theta \leq 25^\circ$ 范围内, 共收集衍射点 12 058 个, 其中独立衍射点($R_{\text{int}}=0.031\,2$) 8 350 个, 有 5 485 个 $I>2\sigma$ 的独立衍射点用于结构精修。全部数据经 L_p 校正和经验吸收校正, 晶体结构由直接法解出, 部分非氢原子坐标在以后的数论差值 Fourier 合成中陆续确定, 全部非氢原子坐标及各向异性热参数用全矩阵最小二乘法修正。氢原子坐标通过理论加氢方法得到。所有计算均采用 SHELXTL-97 程序包在 PC 计算机上完成。有关晶体学数据详见表 1。

CCDC: 800751。

表 1 标题配合物的晶体学数据

Table 1 Crystallographic data of titled complex

Empirical	$\text{C}_{48}\text{H}_{54}\text{CoN}_9\text{O}_3\text{S}_3$	GOF	1.078
Formula weight	960.11	<i>Z</i>	2
<i>T</i> / K	296(2)	<i>D_c</i> / ($\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$)	1.328
Crystal system	Triclinic	<i>F</i> (000)	1 008
Space group	$P\bar{1}$	θ range for data collection / ($^\circ$)	1.87 to 25
<i>a</i> / nm	1.004 01(9)	Index ranges	$-11 \leq h \leq 11, -12 \leq k \leq 14, -26 \leq l \leq 24$
<i>b</i> / nm	1.185 42(11)	Reflections collected / unique (R_{int})	12 058 / 8 350 (0.031 2)
<i>c</i> / nm	2.241 86(19)	Observed data ($I>2\sigma(I)$)	5 485
α / ($^\circ$)	78.124(10)	R_1, wR_2 ($I>2\sigma(I)$)	$R_1=0.006\,39, wR_2=0.171\,6$
β / ($^\circ$)	78.401(2)	R_1, wR_2 (all data)	$R_1=0.096\,9, wR_2=0.187\,6$
γ / ($^\circ$)	68.188(10)	Largest diff. peak and hole / ($\text{e} \cdot \text{nm}^{-3}$)	903 and -509
<i>V</i> / nm^3	2.401 3(4)		

1.4 Co 配合物与 DNA 作用的实验方法

1.4.1 电子吸收光谱实验

在参比池中放 2 mL DMF 溶液, 样品池放同样体积的配体或配合物溶液, 测定配体或配合物的吸收光谱; 用微量加样器每次往参比池和样品池加入相同体积的 DNA 溶液, 测定吸收光谱。

1.4.2 荧光光谱实验

在样品池中加入 2 mL 的配体或配合物溶液, 每次往样品池加入一定体积的 DNA 溶液, 使 DNA 与配体或配合物的浓度比值不断增加, 用适当激发光进行激发, 测定配合物或配体的发射光谱。

1.4.3 DNA 的粘度实验

DNA 浓度固定为 $1.16 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 配体或配合物浓度依次增大, 在 25°C 恒温水槽中用乌氏粘度计测其粘度。

2 结果与讨论

2.1 配体和配合物的表征

用 Thermo Nicolet 5700 红外光谱仪, 采用 KBr 压片法, 在 $400\sim 4\,000 \text{ cm}^{-1}$ 范围内测得配体和配合物的红外光谱, 比较配体和配合物的红外谱图可以看出, 配合物的振动吸收峰都有相应的移动。标题化合物中新出现的 $2\,923.4$ 和 $2\,854.7 \text{ cm}^{-1}$ 处的 $\nu(\text{CH}_3)$ 的不对称和对称伸缩振动峰以及 $1\,665.1 \text{ cm}^{-1}$

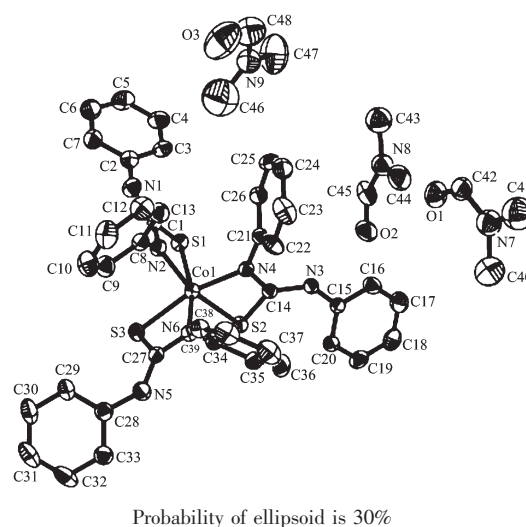
处的 $\nu(\text{C}=\text{O})$ 的伸缩振动峰,说明配合物中存在溶剂 DMF。配体中 1344.2 和 1314.8 cm^{-1} 处的 $\nu(\text{C}=\text{S})$ 吸收峰在配合物中移至 1301.4 cm^{-1} , 同时配合物在 539.4 和 469.5 cm^{-1} 出现的新峰可指认为 $\nu(\text{N}-\text{Co})$ 和 $\nu(\text{S}-\text{Co})$, 上述情况表明 N-H 中的 N 原子和 C=S 中的 S 原子参与了与金属离子的配位。红外光谱的分析结果与配合物的晶体结构分析结果一致。

配体和配合物的紫外可见光谱在 Perkin-Elmer Lambda 650s 型紫外可见光谱仪上测定, 所采用的溶剂是分析纯的 DMF, 配成 $1.28 \times 10^{-5}\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的溶液, 配体的吸收峰在 280 nm , 这来源于配体中苯环中的 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁, 配合物不仅在 268 nm 处有吸收, 同时在可见区观察到两条弱的吸收可归之为八面体环境 Co(III) 离子的 $d-d$ 跃迁^[10]。

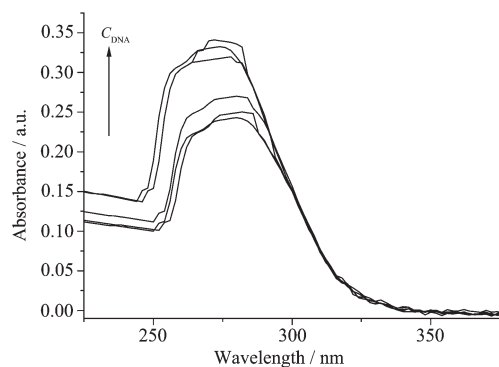
2.2 晶体结构描述与讨论

配合物的单元结构见图 1, 主要键长和键角列于表 2。从图 1 可以看出, 该配合物的不对称单元由 1 个 Co(III) 中心离子、3 个二苯基硫脲配体和 3 个未参与配位的 DMF 组成。配合物以 Co(III) 离子为中心形成配位多面体, 在轴向位置与 S3、N4 配位, 键长分别为 $0.227\ 22(13)\text{ nm}$ (Co1-S3)、 $0.192\ 2(4)\text{ nm}$ (Co1-N4), 在赤道平面上与 S1、N2、S2 和 N6 形成两短两长的配位键, 两短键为 Co1-N2 ($0.193\ 6(4)\text{ nm}$) 和 Co1-N6 ($0.192\ 7(4)\text{ nm}$), 两长键为 Co1-S1 ($0.225\ 11(14)\text{ nm}$) 和 Co1-S2 ($0.226\ 50(13)\text{ nm}$)。位于轴向位置的 S3 与处于赤道位置的 S1、N2、S2 和 N6

键角分别为 $98.90(5)^\circ$ (S1-Co1-S3)、 $93.35(12)^\circ$ (N2-Co1-S3)、 $99.70(5)^\circ$ (S2-Co1-S3)、 $71.37(11)^\circ$ (N6-Co1-S3), 这 4 个角均不同程度的偏离 90° , 位于轴向位置的 N4 与处于赤道位置的 S1、N2、N6 和 S2 键角分别为 $93.74(12)^\circ$ (N4-Co1-S1)、 $97.54(15)^\circ$ (N4-Co1-N2)、 $97.33(15)^\circ$ (N4-Co1-N6)、 $71.43(10)^\circ$ (N4-Co1-S2), 键角情况与 S3 相似。3 对位于对角位置与 Co(III) 离子配位的原子的键角大小分别为 $165.39(11)^\circ$ (N4-Co1-S3)、 $163.88(13)^\circ$ (N2-Co1-S2)、 $166.19(11)^\circ$ (N6-Co1-S1), 比较接近 180° 。因此由以上数据可以看出金属配合物的几何构型为畸变八面体构型。



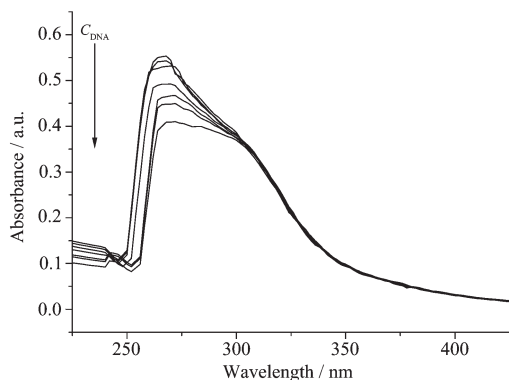
关的特有光谱性质。增色效应是小分子与 DNA 碱基作用, DNA 双螺旋结构改变的结果; 而减色效应是小分子与 DNA 的磷酸基团静电作用, 使 DNA 空间轴向收缩的结果^[14-15]。从图 2 可以看出, 配体的吸收光谱随 DNA 的加入, 吸收峰伴随有增色现象; 而配合物的吸收光谱(见图 3)随 DNA 的加入变化情况与配体正好相反, 吸收峰出现减色效应, 但是红移效应不是很明显。这些结果表明: 配体与 DNA 之间可能是由于静电作用, 使 DNA 双螺旋结构破坏, 发生解旋, 从而产生增色效应; 而配合物可能是以部分插入模式与 DNA 作用, 使其 π 空轨道与碱基的 π 电子轨道发生耦合, 耦合后的 π 轨道因部分填充电子, 使跃迁几率减小, 产生减色效应^[16], 但是 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁能量并无减小, 因为红移现象不明显, 因此推测配合物与 DNA 插入结合作用较弱。



$C_{\text{DNA}} / (\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$: 0, 16, 31, 62, 77, 93

图 2 不同浓度 DNA 条件下配体的吸收光谱

Fig.2 Absorption spectra of DPTU in various concentration of DNA



$C_{\text{DNA}} / (\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$: 0, 16, 46, 77, 108, 139, 170

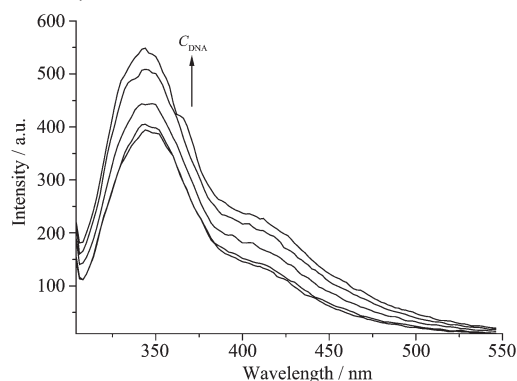
图 3 不同浓度 DNA 条件下配合物的吸收光谱

Fig.3 Absorption spectra of complex in various concentration of DNA

2.3.2 荧光光谱实验

荧光法是研究配合物与 DNA 作用的比较灵敏

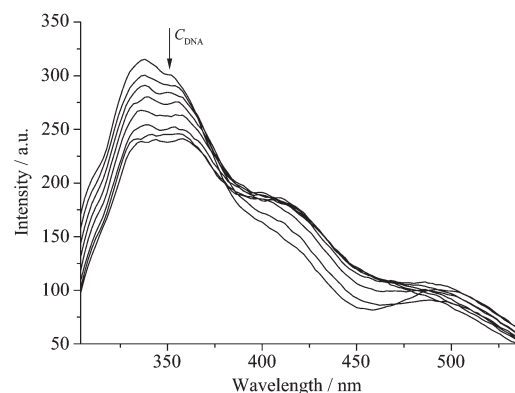
的测试方法。配体在 $\lambda_{\text{ex}}=290 \text{ nm}$ 的激发光谱中, 在 350 nm 附近有一荧光峰, 且该峰随 DNA 浓度的增加荧光强度增强。由此推测有可能是配体嵌入到了 DNA 双螺旋结构的碱基对之间, 受到了 DNA 分子的保护, 减少了溶剂分子对配体的碰撞所致^[17]。配合物在 $\lambda_{\text{ex}}=280 \text{ nm}$ 的激发光谱中, 在 338 nm 处有一荧光峰, 随着 DNA 浓度的增大该峰荧光强度减弱。这些特征表明: 配合物可能以静电结合等方式与 DNA 作用, 从而导致荧光强度下降。



$C_{\text{DNA}} / (\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$: 0, 16, 46, 77, 108, $\lambda_{\text{ex}}=290 \text{ nm}$, Slit_{ex}/Slit_{em}=10/10

图 4 不同浓度 DNA 条件下配体的荧光光谱

Fig.4 Fluorescence spectra of DPTU in various concentration of DNA



$C_{\text{DNA}} / (\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$: 0, 16, 46, 77, 108, 139, 170, 201, $\lambda_{\text{ex}}=280 \text{ nm}$, Slit_{ex}/Slit_{em}=10/10

图 5 不同浓度 DNA 条件下配合物的荧光光谱

Fig.5 Fluorescence spectra of complex in various concentration of DNA

2.3.3 粘度实验

粘度测定是检测物质与 DNA 结合方式最有效的方法之一, 粘度对分子长度变化非常敏感。当小分子配合物以插入模式与 DNA 作用时, DNA 相邻碱基对的距离会增大以容纳插入的配体, 从而导致 DNA 双螺旋伸长, DNA 溶液的粘度增加; 当配合物以静电或沟面结合等非插入模式与 DNA 作用时,

DNA 溶液的粘度无明显变化;以部分插入模式与 DNA 作用时,则可能使 DNA 的双螺旋扭结,使其分子粘度减小^[18-19]。实验结果(图 6)表明:配体与 DNA 作用后粘度有所增加,但是总体变化不是很大,说明配体与 DNA 之间的作用方式既有插入模式,又存在静电结合等非插入模式;而配合物与 DNA 作用后,其粘度先减小后略有增大,这说明配合物在高浓度下以静电作用为主和在低浓度下以部分插入作用为主的多种作用模式与鲑鱼精 DNA 发生键合作用。

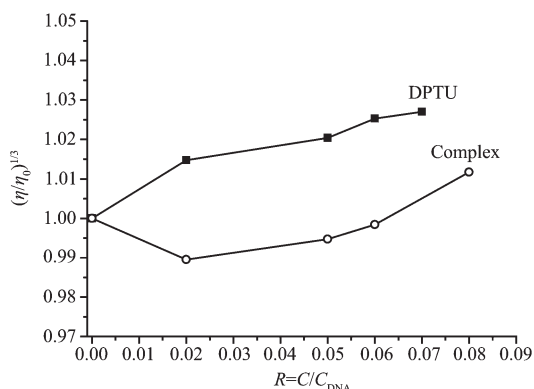


图 6 配体或配合物对 DNA 粘度的影响

Fig.6 Effect of DPTU or complex on the relative of DNA

3 结 论

合成了一种新的钴配合物,通过多种手段对其结构进行了表征。利用电子吸收光谱实验、荧光光谱实验和粘度实验研究了配体和配合物与 DNA 的相互作用,发现 DNA 的加入使配体吸收光谱发生增色效应,荧光强度增大,而使配合物吸收光谱发生减色效应,荧光强度减小;随着配体浓度的增大,DNA 溶液粘度值略有增大,而随着配合物浓度的增大,DNA 溶液粘度值先减小后增大,这些结果说明配体和配合物与 DNA 的作用是插入模式和静电结合模式并存。

参考文献:

- [1] ZHU Li(朱莉), YU Xian-Yong(于贤勇), LONG Yun-Fei(龙云飞), et al. *Acta Chim. Sinica(Huaxue Xuebao)*, **2009**, **67** (2):139-144
- [2] ZHAO Na(赵娜), WANG Xing-Ming(王兴明), WANG Dan(王单), et al. *Chinese J. Inorg. Chem.(Wuji Huaxue Xuebao)*, **2009**, **25**(12):2129-2136
- [3] O'Donoghue K A, Kelly J M, Kruger P E. *Dalton Trans.*, **2004**(1):13-15
- [4] Hossain M D, Ueno R, Haga M. *Inorg Chem. Comm.*, **2000** (3):35-38
- [5] GUO Mao-Lin(郭茂林), YANG Pin(杨频). *Chem. J. Chinese Universities(Gaodeng Xuexiao Huaxue Xuebao)*, **1995**, **16**(7): 1014-1015
- [6] CHEN Ting(陈婷). *Chinese J. China Sci. Technol. Inform. (Zhongguo Keji Xinxì)*, **2005**(17):21
- [7] ZHANG You-Ming(张有明), YANG Li-Zi(杨莉梓), LIN Qi(林奇), et al. *Acta Chim. Sinica(Huaxue Xuebao)*, **2006**, **64** (11):1200-1204
- [8] YANG Hao(杨浩), LIU Jian-Chao(刘建超), BAO Xiao-Yu(包晓玉), et al. *Acta Chim. Sinica(Huaxue Xuebao)*, **2010**, **68** (6):508-514
- [9] ZHU Li(朱莉), PENG Bin(彭斌), LENG You(凌友), et al. *Acta Chim. Sinica(Huaxue Xuebao)*, **2008**, **66** (24):2705-2711
- [10] JING Zhi-Hong(景志红), HU Chun-Xia(胡春霞), LI Yan-Tuan(李延团). *Chin. J. Qufu Normal Univ.(Qufu Shifan Daxue Xuebao)*, **2000**, **26**(4):58-60
- [11] TAN Da-Jin(谭大金), HE Yun(贺云), QIU Li(邱李), et al. *Chinese J. Chem. Res. Appl.(Huaxue Yanjiu Yu Yingyong)*, **2007**, **19**(50):502-505
- [12] ZHANG Rong-Ying(张蓉颖), PANG Dai-Wen(庞代文), CAI Ru-Xiu(蔡汝秀). *Chem. J. Chinese Universities(Gaodeng Xuexiao Huaxue Xuebao)*, **1999**, **20**(8):1210-1217
- [13] PENG Jun-Feng(彭俊峰), LING Jian-Ya(凌建亚), ZHANG Han-Xing(张晗星), et al. *Chin. J. Spectrosc. Spectr. (Guangpuxue Yu Guangpu Fenxi)*, **2004**, **24**(7):858-861
- [14] ZOU Min(邹敏), LIU Shu-Wen(刘叔文), ZHOU Chun-Qiong(周春琼). *Acta Chim. Sinica(Huaxue Xuebao)*, **2010**, **68**(6): 481-486
- [15] ZHANG Ai-Mei(张爱梅), JIA Li-Ping(贾丽萍), HUANG Peng(黄蓬). *Chin. J. Liaocheng Univ.: Nat. Sci.(Liaocheng Daxue Xuebao)*, **2009**, **22**(1):51-53
- [16] SHUAI Li(帅丽), WANG Jiao-Liang(王娇亮), SONG Zhao-Feng(宋昭凤), et al. *Chin. J. Nat. Sci. Hunan Normal Univ. (Hunan Shifan Daxue Ziran Kexue Xuebao)*, **2005**, **28**(4):59-62
- [17] WANG Liu-Fang(王流芳), SONG Yu-Min(宋玉民), FENG Ya-Fei(冯亚非), et al. *Acta Chim. Sinica(Huaxue Xuebao)*, **2004**, **62**(22):2277-2281
- [18] HU Ya-Min(胡亚敏), WANG Xing-Ming(王兴明), FEI Dan(费丹), et al. *Acta Chim. Sinica(Huaxue Xuebao)*, **2008**, **66** (10):1245-1251
- [19] ZHANG Gai-Qing(张改清), YIN Cai-Xia(阴彩霞), HUO Fang-Jun(霍方俊), et al. *Chinese J. Inorg. Chem.(Wuji Huaxue Xuebao)*, **2009**, **25**(3):428-432