

2-(2'-吡啶基)苯并噁唑和甘氨酸铜配合物的结构、 抑菌活性及与 DNA 作用

区志斌¹ 黄山华¹ 乐学义^{*,1,2}

(¹ 华南农业大学理学院应用化学系, 广州 510642)

(² 华南农业大学生物材料研究所, 广州 510642)

摘要: 本文以 2-(2'-吡啶基)苯并噁唑、甘氨酸和高氯酸铜(II)为原料合成了新的三元配合物: $[\text{Cu}(\text{PBO})(\text{Gly})(\text{H}_2\text{O})]\text{ClO}_4$ (PBO=2-(2'-吡啶基)苯并噁唑, Gly=甘氨酸根)。应用元素分析、红外光谱、紫外可见光谱、摩尔电导率等方法对配合物进行了表征。X-射线单晶衍射测得该配合物晶体属正交晶系, $Pca2_1$ 空间群, 晶胞参数: $a=1.029\ 2(2)\ \text{nm}$, $b=1.032\ 9(2)\ \text{nm}$, $c=1.566\ 8(3)\ \text{nm}$; $Z=4$, $V=1.665\ 6(6)\ \text{nm}^3$, $D_c=1.800\ \text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$, $F(000)=916$ 。最终偏离因子: $R_1=0.042\ 6$, $wR_2=0.101\ 3$ 。利用试管二倍稀释法测定了配合物的抗菌活性, 通过电子吸收光谱、荧光光谱和粘度测定研究了配合物与 DNA 的作用。结果表明, 与 2-(2'-吡啶基)苯并噁唑相比较, 该配合物对枯草杆菌(*B. subtilis*, G+), 金黄色葡萄球菌(*S. aureus*, G+), 苏云金芽孢杆菌(*B. thuringiensis*, G+), 水稻条斑病细菌(*X. oryzae*, G-), 大肠杆菌(*E. coli*, G-)和沙门氏杆菌(*Salmonella*, G-)具有良好的抑制活性, 并且以插入方式与 DNA 作用。

关键词: 铜(II)配合物; 2-(2'-吡啶基)苯并噁唑; 甘氨酸; 抗菌活性; DNA

中图分类号: O614.121 文献标识码: A 文章编号: 1001-4861(2012)08-1580-07

Structure, Antibacterial Activities and DNA Interaction of a Copper(II) Complex with 2-(2'-Pyridyl) benzoxazole and Glycinate

OU Zhi-Bin¹ HUANG Shan-Hua¹ LE Xue-Yi^{*,1,2}

(¹Department of Applied Chemistry, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

(²Institute of Biomaterial, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: A new ternary copper(II) complex: $[\text{Cu}(\text{PBO})(\text{Gly})(\text{H}_2\text{O})]\text{ClO}_4$ (PBO=2-(2'-pyridyl) benzoxazole, Gly=glycinate), was synthesized and characterized by elemental analysis, molar conductivity, IR, UV-Vis and single crystal X-ray diffraction. The crystal belongs to orthorhombic, space group $Pca2_1$, with the crystal cell parameters: $a=1.029\ 2(2)\ \text{nm}$, $b=1.032\ 9(2)\ \text{nm}$, $c=1.566\ 8(3)\ \text{nm}$, $Z=4$, $V=1.665\ 6(6)\ \text{nm}^3$, $D_c=1.800\ \text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$, $F(000)=916$, $R_1=0.042\ 6$, $wR_2=0.101\ 3$. The complex was assayed against gram-positive (*S. aureus*, *B. subtilis*, *B. thuringiensis*) and gram-negative (*X. oryzae*, *Salmonella*, *E. coli*) bacteria by doubling dilutions method, and the interaction of the complex to DNA was investigated by electronic absorption spectroscopy, fluorescence spectroscopy, and viscosity measurement. The results show that the complex has good antibacterial activities and can bind to DNA by intercalative mode. CCDC: 852991.

Key words: ternary copper(II) complex; 2-(2'-pyridyl) benzoxazole; glycine; antibacterial activity; DNA

收稿日期: 2011-11-26。收修改稿日期: 2012-05-08。

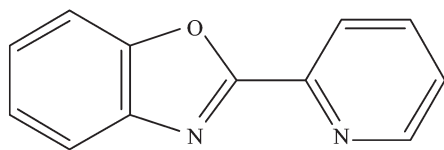
广东省自然科学基金(No.10151064201000016)及华南农业大学 211 工程项目(No.2009B010100001)资助项目。

*通讯联系人。E-mail: lexifu@163.com; 会员登记号: S060000184M。

0 引言

2-取代苯并噁唑衍生物是一类重要的杂环化合物,具有抗菌、抗病毒、抗氧化、抗癌等生物活性,其作用机制可能与化合物对 DNA 的作用有关^[1-5]。并且发现当这类化合物与金属离子形成配合物时可进一步提高其生物活性,因此研究 2-取代苯并噁唑衍生物金属配合物有重要意义^[6-8]。

2-(2'-吡啶基)苯并噁唑(PBO)(Scheme 1)是一类重要的 2-取代苯并噁唑衍生物,具有良好的抗菌、抗真菌和抗寄生物等活性^[9],铜是重要的生命元素,参与生物体中许多生命过程,而 *L*- α -氨基酸是重要的生物配体,当在金属配合物中插入这类氨基酸时,可以增加配合物对生物细胞膜的渗透性,降低药物的毒性,有助于细胞对药物吸收而提高其生物活性^[9],故本文以 2-(2'-吡啶基)苯并噁唑、甘氨酸和高氯酸铜(II)为原料合成了新的三元配合物[Cu(PBO)(Gly)(H₂O)]ClO₄(PBO=2-(2'-吡啶基)苯并噁唑, Gly=甘氨酸根)。用试管二倍稀释法测定了该配合物的抑菌活性,并应用电子吸收光谱、荧光光谱和粘度测定等方法研究了配合物与 DNA 的作用。



Scheme 1 Molecular structure of 2-(2'-pyridyl)benzoxazole

1 实验部分

1.1 试剂及仪器

2-(2'-吡啶基)苯并噁唑参照文献方法^[10]制备。甘氨酸、三羟甲基氨基甲烷、营养肉汤和小牛胸腺 DNA(CT-DNA)为生化试剂,其它试剂为市售分析纯。研究配合物与 DNA 作用时,反应体系为 10 mmol·L⁻¹ Tris(三羟甲基氨基甲烷)-HCl+50 mmol·L⁻¹ NaCl 缓冲溶液(pH=7.2),参照文献^[11]确定小牛胸腺 DNA 浓度。整个实验过程均使用二次蒸馏水。

Vario EL 元素分析仪, ELEMENTAR 公司; Bruker Smart 1K CCD 单晶衍射仪, Bruker 公司; ACATAR 360 FT-IR 型红外光谱仪(KBr 压片), 美国 Nicolet 公司; Shimadzu UV-2550 型紫外/可见分光光度计, 日本 Shimadzu 公司; DDS-12A 型电导率仪, 上海宇隆仪器有限公司; F-4500 型荧光光谱仪,

日本 HITACHI 公司; 乌氏粘度计, 上海晶菱玻璃有限公司。

1.2 配合物合成

将 0.5 mmol 2-(2'-吡啶基)苯并噁唑和 0.5 mmol Cu(ClO₄)₂·6H₂O 分别溶于 20 mL 无水乙醇和 1 mL 水中, 混合搅拌反应 10 min 后, 向溶液中滴加 5 mL 含 0.5 mmol 甘氨酸及 0.5 mmol NaOH 的水溶液。加热搅拌回流 20 min 后, 液冷过滤, 静置 15 d 后析出适合于 X-射线单晶衍射测定的蓝绿色晶体。

对配合物进行元素分析并测定其红外光谱(IR)、紫外可见光谱(UV-Vis)和摩尔电导率。IR(KBr), ν/cm^{-1} : 3 460(s, br), 3 340(w), 3 074(w), 1 652(vs), 1 431(s), 1 440(w); UV-Vis, λ/nm ($\epsilon/(\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1})$): 230(8 653), 303(15 312), 638(98); EA(%), Found: C, 37.10; H, 3.17; N, 9.22; Calc for C₁₄H₁₄ClCuN₃O₈: C, 37.26; H, 3.13; N, 9.31。 $\Lambda_{\text{CH}_3\text{OH}}/(\text{S} \cdot \text{cm}^2 \cdot \text{mol}^{-1})$: 113。

1.3 晶体结构测定

室温下, 选取大小为 0.33 nm×0.43 nm×0.44 mm 的晶体置于 Bruker Smart 1K CCD 型单晶衍射仪上, 以石墨单色化的 Mo K α ($\lambda=0.071\ 073\ \text{nm}$)辐射为光源, 在 $2.6^\circ \leq \theta \leq 27.1^\circ$ 范围内收集到 10 297 个衍射数据, 其中独立衍射点($R_{\text{int}}=0.030$)和 $I \geq 2\sigma(I)$ 的可观察点分别为 3 476 和 3 113 个。吸收校正采用 SADABS 程序, 数据收集和晶胞修正采用 Smart 程序, SAINT+程序用于数据还原。晶体结构用直接法解出, 氢原子为理论加氢, 对非氢原子坐标及其各向异性热参数进行了全矩阵最小二乘法修正。所有计算均由 SHELXTL97 晶体结构分析软件包完成^[12]。最终偏离因子: $R_1=0.042\ 6$, $wR_2=0.101\ 3$ 。 $w=1/[\sigma^2(F_o^2)+(0.069\ 7P)^2+0.192\ 0P]$, 其中 $P=(F_o^2+2F_c^2)/3$ 。有关晶体学数据见表 1。

CCDC: 852991。

1.4 抑菌试验

本文采用试管二倍稀释法测定化合物最小抑菌浓度(MIC), 具体操作步骤与我们以前报道的相类似^[13]。试验所用菌株由华南农业大学农学院-广东省植物分子育种重点实验室提供, 为枯草杆菌(*B. subtilis*, G+), 金黄色葡萄球菌(*S. aureus*, G+), 苏云金芽孢杆菌(*B. Thuringiensis*, G+), 水稻条斑病细菌(*X. Oryzae*, G-), 沙门氏杆菌(*Salmonella*, G-)和大肠杆菌(*E. coil*, G-)来自于华南农业大学农学院-广东省植物分子育种重点实验室。

表 1 配合物的晶体学数据

Table 1 Crystallographic data for the title complex

Empirical formula	C ₁₄ H ₁₄ ClCuN ₃ O ₈	Crystal size / mm	0.33×0.43×0.44
Formula weight	451.27	θ range for data collection / (°)	2.6 to 27.1
Crystal system	Orthorhombic	Index ranges	$-13 \leq h \leq 12$; $-11 \leq k \leq 13$; $-20 \leq l \leq 17$
T / K	298(2)	Reflections collected	10 297
λ / nm	0.71 073	Independent reflections	3 476
Space group	<i>Pca</i> 2 ₁	R_{int}	0.03
a / nm	1.029 2(2)	Refinement method	Full-matrix least-squares on F^2
b / nm	1.0329(2)	Data / restraints / parameters	7 320 / 7 / 245
c / nm	1.566 8(3)	Goodness-of-fit on F^2	1.026
V / nm ³	1.665 6(6)	Final R indices ($I > 2\sigma(I)$)	$R_1=0.037$ 3, $wR_2=0.097$ 6
Z	4	R indices (all data)	$R_1=0.042$ 6, $wR_2=0.101$ 3
D_c / (g·cm ⁻³)	1.8	Absolute structure parameter	0.008(16)
μ / mm ⁻¹	1.524	Largest diff. peak and hole / (e·nm ⁻³)	-410 and 780
$F(000)$	916		

1.5 配合物与 DNA 作用

1.5.1 电子吸收光谱测定

在样品池和空白池中分别加入 $5.36 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 标题配合物溶液和 3 mL Tris-HCl/NaCl 缓冲溶液, 在 195~400 nm 范围内扫描。然后, 每次往样品池和空白池中加入同体积的 CT-DNA 溶液, 使样品池中 CT-DNA 与配合物的浓度比值不断增加。充分摇匀并静置 6 min 后在上述同样波长范围内扫描测定电子吸收光谱。

1.5.2 荧光光谱测定

激发波长为 525 nm 和扫描速度为 $240 \text{ nm} \cdot \text{s}^{-1}$ 下, 在 550~650 nm 波长区间扫描并记录系列配合物/CT-DNA/溴化乙锭(EB)体系的荧光强度变化。在系列试样溶液中, 依此增加配合物的浓度, 而 EB 和 CT-DNA 的浓度分别恒定为 $4.8 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $5.5 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

1.5.3 粘度测定

在恒定温度(29 ± 0.1 °C)下, 固定 CT-DNA 浓度为 $0.2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 逐渐增大配合物浓度。测定不同 r ($C_{\text{Complex}}/C_{\text{DNA}}$) 值下配合物与 CT-DNA 混合溶液流经毛细管所需的时间 t , 然后按照公式: $\eta = (t - t_0)/t_0$ (t_0 为缓冲溶液流经毛细管所需时间) 计算溶液的相对粘度, 并以 $(\eta/\eta_0)^{1/3}$ 对 $C_{\text{Complex}}/C_{\text{DNA}}$ (η_0 为 $r=0$ 时 CT-DNA 溶液的相对粘度) 作图。

2 结果与讨论

2.1 配合物表征

测得配合物在甲醇溶液中的摩尔电导率为 113

$\text{S} \cdot \text{cm}^2 \cdot \text{mol}^{-1}$, 表明配合物为 1:1 型电解质^[14]。

用 KBr 压片法测定了配合物在 400~4 000 cm^{-1} 范围内的红外光谱。3 460 cm^{-1} 处强而宽的红外吸收峰归属于 H_2O 的 ν_{OH} ; 3 340 和 3 074 cm^{-1} 处 2 个弱吸收带归属于甘氨酸根中 $-\text{NH}_2$ 基团的 2 个不对称分裂吸收峰 ν_{NH} ; 1 652 和 1 431 cm^{-1} 处 2 个强吸收带分别为甘氨酸根中 $-\text{COO}^-$ 基团的非对称伸缩振动 $\nu_{\text{as}}(\text{COO}^-)$ 和对称伸缩振动 $\nu_{\text{s}}(\text{COO}^-)$, 且之间差值 $\Delta\nu(\nu_{\text{as}}(\text{COO}^-) - \nu_{\text{s}}(\text{COO}^-)) = 221 \text{ cm}^{-1} > 200 \text{ cm}^{-1}$, 表明 $-\text{COO}^-$ 为单齿配位基团^[15]。此外, 1 440 cm^{-1} 处弱吸收可归属于 2-(2'-吡啶基) 苯并噻唑芳环上的 $\text{C}=\text{N}$ 的伸缩振动 $\nu_{\text{C}=\text{N}}$ 。

测定了配合物甲醇溶液室温下在 200~800 nm 范围内的紫外可见光谱。紫外区 228 和 303 nm 处 2 个强吸收峰归属于配体 2-(2'-吡啶基) 苯并噻唑的 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁。与未配位 2-(2'-吡啶基) 苯并噻唑的相关吸收峰相比, 这些吸收峰的位置未发生明显改变, 但强度有所减弱, 归因于该配体上的氮原子配位后导致其芳环上电子云密度的降低。另外, 可见光区 638 nm 处弱而宽的吸收峰可归因于配合物分子中中心 Cu(II) 离子的 $d \rightarrow d$ 跃迁, 并且由此推测配合物分子具有变形四方锥结构^[16]。

2.2 配合物晶体结构

X-射线单晶衍射结果表明, 配合物属于正交晶系, *Pca*2₁ 空间群。晶体由配阳离子 $[\text{Cu}(\text{PBO})(\text{Gly})(\text{H}_2\text{O})]^+$ 和阴离子 ClO_4^- 堆积而成。配合物的部分键参数列于表 2 中, 而中心金属铜(II)离子的配位结构如图 1 所示。

表 2 配合物的部分键长和键角

Table 2 Selected bond lengths (nm) and angles (°) for the complex

Cu(1)-O(2)	0.192 3(2)	Cu(1)-O(1W)	0.224 5(3)	Cu(1)-N(1)	0.199 6(3)
Cu(1)-N(2)	0.202 9(3)	Cu(1)-N(3)	0.202 2(3)	Cl(1)-O(7)	0.135 1(11)
Cl(1)-O(4)	0.138 5(6)	Cl(1)-O(5)	0.142 5(5)	Cl(1)-O(6)	0.339(8)
O(1)-C(13)	0.123 6(4)	O(2)-C(13)	0.128 1(4)		
O(1W)-Cu(1)-O(2)	104.82(11)	O(1W)-Cu(1)-N(1)	95.66(12)	O(1W)-Cu(1)-N(2)	90.21(12)
O(1W)-Cu(1)-N(3)	86.95(12)	O(2)-Cu(1)-N(1)	85.21(11)	O(2)-Cu(1)-N(2)	163.05(11)
O(2)-Cu(1)-N(3)	92.06(11)	N(1)-Cu(1)-N(2)	101.33(13)	N(1)-Cu(1)-N(3)	176.62(13)
N(2)-Cu(1)-N(3)	80.78(12)	O(4)-Cl(1)-O(6)	109.1(5)	O(4)-Cl(1)-O(7)	107.0(5)
O(5)-Cl(1)-O(6)	111.3(4)	O(5)-Cl(1)-O(7)	107.1(5)	O(6)-Cl(1)-O(7)	106.5(7)
O(4)-Cl(1)-O(5)	115.4(3)	Cu(1)-O(2)-C(13)	115.7(2)	C(6)-O(3)-C(11)	103.3(3)
O(1-C(13)-C(14)	118.4(3)	O(1)-C(13)-O(2)	124.1(3)	O(2)-C(13)-C(14)	117.5(3)

表 3 配合物部分氢键参数

Table 3 Selected hydrogen bond parameters for the complex

D-H...A	d(D-H) / nm	d(H...A) / nm	d(D...A) / nm	∠DHA/ (°)
O(1W)-H(1WC)···O(4) ⁱ	0.082 00	0.243 00	0.322 2(9)	162.00
N(1)-H(1)···O(2) ⁱⁱ	0.090 00	0.234 00	0.321 0(4)	162.00
O(1W)-H(1WD)···O(1) ⁱⁱⁱ	0.082 00	0.193 00	0.271 0(4)	160.00
C(2A) ⁱⁱⁱ -H(2A)···O(4) ⁱ	0.093 00	0.249 00	0.337 0(7)	157.00

Symmetry transformations used to generate equivalent atoms: ⁱ 1-x, 2-y, -1/2+z; ⁱⁱ -1/2+x, 2-y, z; ⁱⁱⁱ 3/2-x, y, -1/2+z.

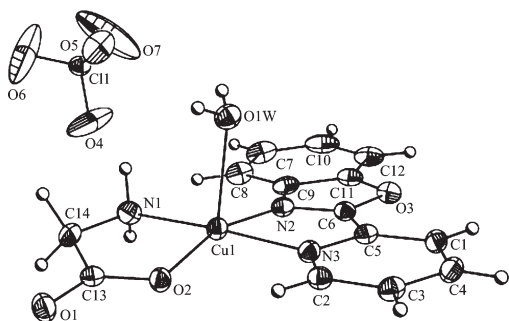


图 1 配合物分子结构

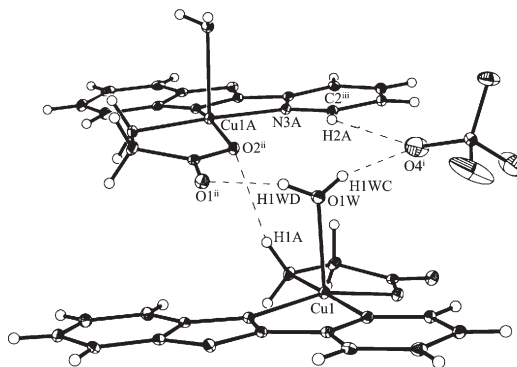
Fig.1 Molecular structure for the complex with thermal ellipsoids at the 35% probability level

在配阳离子 $[\text{Cu}(\text{PBO})(\text{Gly})(\text{H}_2\text{O})]^+$ 中,每个 Cu(II) 离子与一个 Gly(N,O)、一个 PBO (N, N) 及一个 H_2O (O) 作用形成五配位的变形四方锥构型。其中 PBO (N,N) 与 Gly(N,O) 位于四方锥平面上,而 $\text{H}_2\text{O}(\text{O})$ 配位在四方锥顶点上,配位键键长、键角与多吡啶-铜(II)-L- α -氨基酸配合物^[17-21] 分子中相关的键长、键角相近。分子中 O(2), N(1), N(2), N(3) 和 Cu(1) 所处的平面方程为: $-0.583\ 2x + 0.055\ 1y + 0.810\ 4z = -5.285\ 8$, 且这些原子偏离该平面值分别为 $-0.014\ 75, 0.007\ 38, -0.013\ 82, 0.008\ 93$ 和 $0.012\ 26\ \text{nm}$, 表明这 5 个原

子都基本上处在同一个平面上。

表 3 中数据表明,晶体中高氯酸根与配阳离子 $[\text{Cu}(\text{PBO})(\text{Gly})(\text{H}_2\text{O})]^+$ 中 PBO 芳环 C 以及配位水之间存在氢键,而 Gly 中未配位羧基氧和配位羧基氧分别与另一配阳离子中配位水及 Gly 的氨基氮形成氢键,由此在配合物晶体中产生了一个三维氢键网络结构(图 2)。

另外,配合物晶体中通过配阳离子 $[\text{Cu}(\text{PBO})$

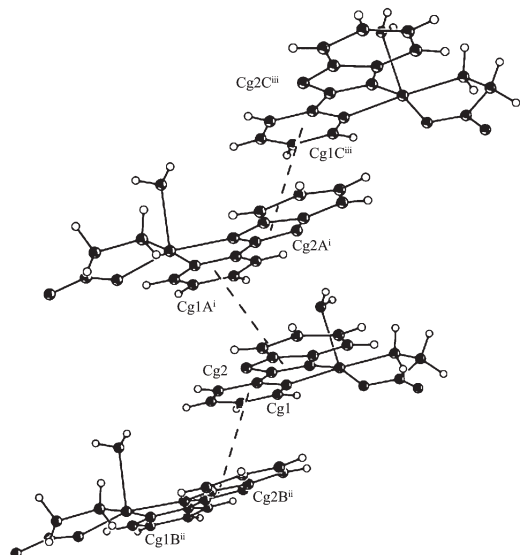


Symmetry codes: ⁱ 1-x, 2-y, -1/2+z; ⁱⁱ -1/2+x, 2-y, z; ⁱⁱⁱ 3/2-x, y, -1/2+z

图 2 配合物晶体中氢键作用

Fig.2 Hydrogen bonds in the crystal for the complex

(Gly)(H₂O)]⁺ 中 PBO 的吡啶环与邻近配离子中 PBO 的噻唑环之间的 π - π 堆积作用形成的一维阶梯状结构(图 3)。堆积平面之间夹角为 6.7°, 平面垂直距离为 0.331 38 nm, 而质心 Cg1 与 Cg2B 之间及 Cg2 与 Cg1A 之间距离均为 0.377 72 nm, 其堆积方向与晶体二重轴向垂直。



ClO₄⁻ are omitted for clarity; Symmetry codes: ⁱ -1/2+x, 1-y, z; ⁱⁱ 1/2+x, 1-y, z, ⁱⁱⁱ x, y, z

图 3 阳离子[Cu(PBO)(Gly)(H₂O)]⁺之间 π - π 堆积作用

Fig.3 π - π stacking interactions between [Cu(PBO)(Gly)(H₂O)]⁺ cations

2.3 配合物抑菌活性

将试验化合物配成浓度为 1 000 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的原液, 通过试管二倍稀释法配制成系列浓度溶液, 细菌最终接种量为 5×10^6 CFU $\cdot\text{mL}^{-1}$, 恒温(37°C)恒湿(RH>80%)下培养 24 h。测得 Cu(ClO₄)₂、PBO 和配合物抑制细菌最低浓度(MICs)^[22]如表 4 所示。

结果表明, 对于同一种菌种, 配合物抑制细菌生长的最低浓度明显小于 Cu(ClO₄)₂ 及 PBO, 表明配合物有相对较强的抗菌活性, 这可能主要与金属铜(II)离子与配体之间的螯合作用有关^[23]。另外, 类似于 Cu(ClO₄)₂ 和 PBO, 配合物对革兰氏阴性菌(水稻条斑病细菌、大肠杆菌和沙门氏杆菌)的抑制作用大于革

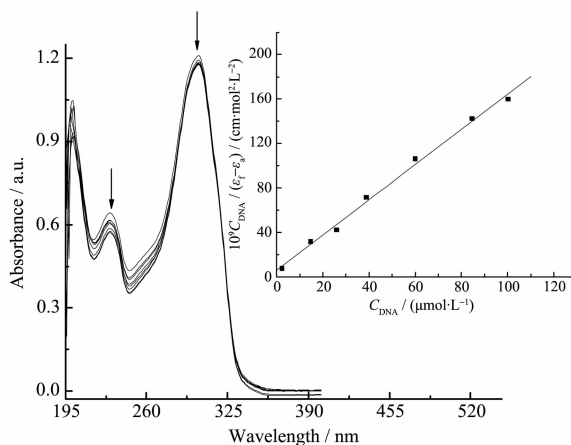
兰氏阳性菌(枯草杆菌、金黄色葡萄球菌和苏云金芽孢杆菌), 究其原因有待于进一步研究。

2.4 配合物与 DNA 的相互作用

2-取代苯并噻唑衍生物生物活性作用机制可能与其对 DNA 的作用有关, 因此研究主题配合物与 DNA 之间相互作用对探索其抗菌作用机理有重要意义。本文通过电子吸收光谱、荧光光谱和粘度测定等方法研究了配合物与 DNA 的作用。

2.4.1 配合物与 CT-DNA 作用的电子吸收光谱

电子吸收光谱是研究配合物与 DNA 作用的最常用方法之一。标题配合物与 CT-DNA 作用的电子吸收光谱如图 4 所示。结果表明, 随着 CT-DNA 浓度增加, 配合物在 195~400 nm 波长范围内的 $\pi\rightarrow\pi^*$ 跃迁吸收带发生了明显的减色效应, 表明配合物与 CT-DNA 发生了作用。由于吸收峰红移现象不明显, 推测只发生较弱的插入作用^[24]。



Arrows denote the increase direction in DNA concentration; $C_{\text{complex}}=5.36\times 10^{-5}$ mol $\cdot\text{L}^{-1}$, $10^{-5}C_{\text{DNA}} / (\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$: 0, 2.36, 1.48, 26, 38.9, 60.1, 84.8, 100

图 4 不同 CT-DNA 浓度下配合物的电子吸收光谱图

Fig.4 Electronic absorption spectra of the complex upon addition of CT-DNA

为了定量研究配合物与 CT-DNA 作用程度的强弱, 能够根据方程式: $C_{\text{DNA}}/(\epsilon_a-\epsilon_f)=C_{\text{DNA}}/(\epsilon_b-\epsilon_f)+1/K_b$, ($\epsilon_b-\epsilon_f$)求得配合物与 CT-DNA 的结合常数 K_b 。式中 C_{DNA} 表示 CT-DNA 的浓度, ϵ_a 为配合物的表观摩尔

表 4 化合物抑制细菌生长的最低浓度(MIC, $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)

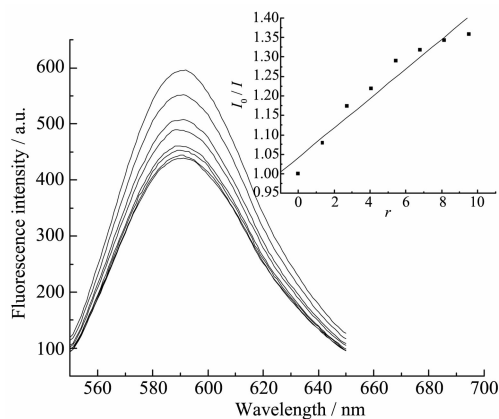
Table 4 Minimal inhibitory concentrations(MIC, $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) of the compounds for the assayed bacteria

Compound	<i>B. subtilis</i> (G+)	<i>S. aureus</i> (G+)	<i>B. thuringiensis</i> (G+)	<i>X. oryzae</i> (G-)	<i>Salmonella</i> (G-)	<i>E. coli</i> (G-)
Cu(ClO ₄) ₂	500	500	500	250	250	250
PBO	500	500	500	250	250	250
Complex	125	125	125	62.5	62.5	62.5

吸光系数, ϵ_b 和 ϵ_f 分别表示完全键合和自由的配合物摩尔吸光系数。以 $C_{DNA}/(\epsilon_f - \epsilon_b)$ 对 C_{DNA} 作图得直线(图 4 中插图) 方程: $y = 1.5819 \times 10^{-3}x + 6.0049 \times 10^{-9}$, 并由斜率与截距的比值求得配合物与 DNA 的结合常数 $K_b = 2.634 \times 10^5 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L}$, 远小于经典插入试剂溴乙锭(EB)对 DNA 的插入作用($K_b = 1.4 \times 10^6 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L}$ in $25 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Tris-HCl}/40 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NaCl buffer, pH 7.9}$)^[25]。

2.4.2 配合物与 DNA 作用的荧光光谱

溴化乙锭是一具有共轭芳香环的平面分子,其本身荧光很弱,但当插入到 DNA 双螺旋结构碱基之间时,其体系荧光显著增强。然而,当其它不产生荧光且对 DNA 具有插入作用的分子将 EB 从 DNA 双螺旋结构中挤出来时,EB-DNA 体系荧光强度显著降低^[26]。因此,对于不产生荧光配合物,可通过测定配合物浓度对 DNA-EB 体系荧光强度的影响来研究该配合物对 DNA 的作用。标题配合物不产生荧光,测得该配合物对 EB-CT-DNA 体系荧光光谱的影响如图 5 所示。



Arrows show the absorbance changing upon the increase in the complex concentration; $r = C_{\text{complex}} / C_{\text{DNA}}$: 0, 1.35, 2.71, 4.07, 5.43, 6.79, 8.15, 9.51

图 5 配合物浓度对 EB-CT-DNA 体系荧光光谱的影响

Fig.5 Effects of the complex on the fluorescence spectra of EB-CT-DNA system

实验结果(图 5)表明,随着配合物浓度增加,EB-CT-DNA 体系荧光强度下降,由此推测有可能是配合物插入到 DNA 双螺旋结构的碱基对之间而将 EB 挤出。为了定量描述这种作用,可以应用经典 Stern-Volmer 方程: $I_0/I = 1 + K_{sq}$ 求得配合物取代 EB 与 DNA 作用的猝灭常数 K_{sq} ^[26]。式中 I_0 和 I 为未加配合物和添加配合物时 EB-DNA 体系的荧光强度, r 表示配合物与 DNA 的浓度比,即 $C_{\text{complex}}/C_{\text{DNA}}$ 。以 I_0

I/I 对 r 作图获得直线(图 5 中插图) 方程式为: $y = 0.0379x + 1.0424$, 由直线的斜率得 $K_{sq} = 0.0379$, 表明配合物对 CT-DNA 只有较弱的插入作用^[27]。

2.4.3 配合物与 DNA 作用的粘度测定

在缺少晶体结构数据的情况时,粘度测定是研究配合物与 DNA 作用模式的最有效的方法之一^[28-29]。配合物以部分插入方式与 DNA 结合时,则可能使 DNA 的双螺旋结构扭结, DNA 溶液的粘度降低;以静电或沟面等非插入模式方式结合时, DNA 溶液的黏度变化不大;而通过经典插入方式与 DNA 作用时, DNA 相邻碱基对的距离会增大、双螺旋结构变长而导致 DNA 溶液的粘度增加。标题配合物浓度对 CT-DNA 相对粘度影响如图 6 所示。

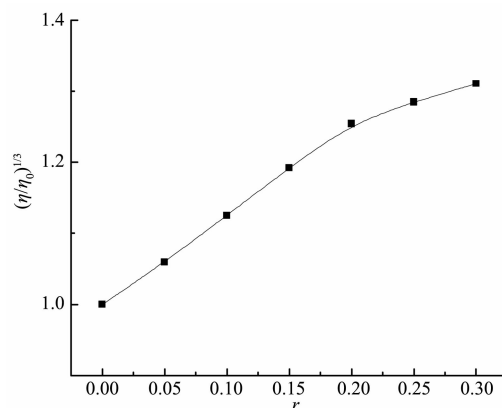


图 6 配合物浓度对 CT-DNA 相对粘度影响

Fig.6 Effect of the concentration of the complex on the relative viscosity of CT-DNA

从图 6 可以看出,随着配合物浓度增加,CT-DNA 的相对粘度增加,表明配合物可能以插入方式与 CT-DNA 作用,但粘度增加幅度比经典插入剂 EB 作用时要小得多^[30],表明标题配合物对 CT-DNA 只有较弱的插入作用,与上述光谱方法测定结果一致。

3 结 论

本文以 2-(2'-吡啶基)苯并噻唑、甘氨酸和高氯酸铜(II)为原料合成了新的三元配合物: $[\text{Cu}(\text{PBO})(\text{Gly})(\text{H}_2\text{O})]\text{ClO}_4$, 该配合物具有变形四方锥结构。研究发现,与 2-(2'-吡啶基)苯并噻唑和 $\text{Cu}(\text{ClO}_4)_2$ 相比较,该配合物对枯草杆菌、金黄色葡萄球菌、苏云金芽孢杆菌、水稻条斑病细菌、大肠杆菌以及沙门氏杆菌具有良好的抑制作用,并且以插入方式与 DNA 作用。

参考文献:

- [1] Bhattacharya S, Chaudhuri P. *Curr. Med. Chem.*, **2008**,**15** (18):1762-1777
- [2] Datt P, Sardar D, Mukhopadhyay A P, et al. *J. Organomet. Chem.*, **2011**,**696**(2):488-495
- [3] Sun L Q, Chen J, Takaki K, et al. *Bioorg. Med. Chem. Letters*, **2004**,**14**(5):1197-1200
- [4] Kamal A, Reddy K S, Khan M N A, et al. *Bioorg. Med. Chem.*, **2010**,**18**(13):4747-4761
- [5] Rida S M, Ashour F A, El-Hawash S A M, et al. *European J. Med. Chem.*, **2005**,**40**(9):949-959
- [6] He X F, Vogels C M, Decken A, et al. *Polyhedron*, **2004**,**23** (1):155-160
- [7] McKee M L, Kerwin S M. *Bioorg. Med. Chem.*, **2008**,**16**(4): 1775-1783
- [8] Spillane C B, Dabo M N V, Fletcher N C, et al. *J. Inorg. Biochem.*, **2008**,**102**(4):673-683
- [9] Zhang S C, Zhu Y G, Tu C, et al. *J. Inorg. Biochem.*, **2004**, **98**(12):2099-2106
- [10] Kumar D, Rudrawar S, Chakraborti A K. *Australian J. Chem.*, **2008**,**61**(11):881-887
- [11] Cater M T, Rodriguez M, Bard A J. *J. Am. Chem. Soc.*, **1989**,**111**(24):8901-8911
- [12] Sheldrick G M. *SHELXTL, Version 5.10 Ed*, Bruker AXS Inc., Madison, Wisconsin, USA, **1997**.
- [13] LU Yan-Mei(卢艳梅), OU Zhi-Bin(区志斌), LIU Hai-Feng (刘海峰), et al. *Chinese J. Inorg. Chem. (Wuji Huaxue Xuebao)*, **2011**,**27**(4):704-710
- [14] Geary W J. *Coord. Chem. Rev.*, **1971**,**7**(1):81-122
- [15] Nakamoto K. *Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds*, 4th Ed. New York: John Wiley and Sons Inc., **1986**:257
- [16] Subramanian P S, Suresh E, Dastidar P, et al. *Inorg. Chem.*, **2001**,**40**(17):4291-4301
- [17] Chen J Y, Ren X X, Le X Y, et al. *Chin. J. Chem.*, **2010**,**28** (11):2179-2187
- [18] Patra A K, Bhowmick T, Roy S, et al. *Inorg. Chem.*, **2009**, **48**(7):2932-2943
- [19] Gu Q, Le X Y, Lin Q B, et al. *Chin. J. Chem.*, **2007**,**25**(6): 791-796
- [20] Le X Y, Gu Q, Song Z J, et al. *J. Coord. Chem.*, **2007**,**60** (13):1359-1371
- [21] ZHOU Jian-Liang(周建良), CHUN Xiao-Gai(春晓改), ZHOU Lin-Jiao(周琳娇), et al. *Chinese J. Inorg. Chem. (Wuji Huaxue Xuebao)*, **2010**,**26**(4):645-650
- [22] Efthimiadou E K, Thomadaki H, Sanakis Y, et al. *J. Inorg. Biochem.*, **2007**,**101**(1):64-73
- [23] Ren X X, Chen J Y, Le X Y. *Chin. J. Chem.*, **2011**,**29**(7): 1380-1388
- [24] Wu J Z, Yuan L, Wu J F. *J. Inorg. Biochem.*, **2005**,**99**(12): 2211-2216
- [25] Lepecq J B, Paoletti C. *J. Mol. Biol.*, **1967**,**27**(1):87-106
- [26] Lakowicz J R, Webber G. *Biochemistry*, **1973**,**12**(21):4161-4170
- [27] Liu J, Zhang T X, Lu T B, et al. *J. Inorg. Biochem.*, **2002**, **91**(1):269-276
- [28] Satyanarayana S, Dabrowiak J C, Chaires J B, et al. *Biochemistry*, **1992**,**31**(39):9319-9324
- [29] HONG Xian-Lan(洪显兰), REN Jian-Min(任健敏). *Chinese J. Inorg. Chem. (Wuji Huaxue Xuebao)*, **2011**,**27**(4):785-790
- [30] REN Xiang-Xiang(任祥祥), WANG Cai-Xia(王彩霞), LU Yan-Mei(卢艳梅), et al. *Chinese J. Inorg. Chem. (Wuji Huaxue Xuebao)*, **2010**,**26**(5):891-898