

二十六元大环双核铜配合物与 DNA 的相互作用^{*}刘捷¹, 周惠², 许软成³, 屈良鹄², 计亮年¹

(1. 中山大学化学与化学工程学院, 广东 广州 510275;

2. 教育部基因工程重点实验室, 广东 广州 510275;

3. 焦作解放军第160医院, 河南 焦作 454003)

摘要 合成一个二十六元大环双核铜配合物 $\text{Cu}_2\text{LCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, 通过元素分析和红外光谱表征了该化合物, 利用紫外-可见光谱、荧光光谱研究了该配合物与小牛胸腺 DNA 的相互作用, 光谱结果表明配合物以插入方式与 DNA 结合, 琼脂糖凝胶电泳实验显示此配合物在 H_2O_2 的存在下, 对 pUC18 DNA 具有较高的断裂效率, 初步证实了该配合物作为化学核酸酶的可能性。

关键词: 大环双核铜配合物; DNA; 紫外光谱; 荧光淬灭; 化学核酸酶

中图分类号: O612 文献标识码: A 文章编号: 0529-6579 (2001) 06-0121-02

近几年, 小分子过渡金属配合物与 DNA 的相互作用的研究已经成为生物无机化学领域十分活跃的研究课题^[1]. 有文献报道, 大环多胺铜配合物能不同程度地断裂 DNA^[2]. 合成了一个二十六元大环双核铜配合物, 利用紫外光谱、荧光淬灭的方法研究了该配合物与 DNA 的相互作用, 琼脂糖凝胶电泳实验显示此配合物对 DNA 具有较高的断裂效率, 这将为大环铜配合物作为药物的研究和应用提供有益的参考。

1 实验部分

1.1 配合物 $\text{Cu}_2\text{LCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 的合成 将 0.1 mmol 配体 L (合成方法参照文献^[3], 其结构式见图 1) 溶于 4 mL 甲醇中, 搅拌下加入 4 mL 含有 0.2 mmol $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 的甲醇溶液. 室温下搅拌 6 h, 将绿色沉淀过滤, 用少量甲醇多次洗涤后真空干燥. 元素分析($\text{C}_{24}\text{Cu}_2\text{Cl}_4\text{H}_{36}\text{N}_6\text{O}_3$, 括号内的数据为理论值, $w/\%$): C 39.29 (39.73); H 5.18 (5.00); N 11.39 (11.59). 红外光谱压片 ν/cm^{-1} (KBr): 3 458(s), 3 207(m), 1 628(s), 1 567(m), 1 475(w), 1 433(w), 1 323(m), 1 225(m), 1 119(m), 1 038(m), 928(m), 835(w). **1.2 大环铜配合物与 DNA 的作用**

(1) 紫外-可见吸收光谱滴定参比池中加入 3 mL 缓冲溶液, 样品池中加入同样体积的 40 $\mu\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ 的配合物溶液, 往参比池和样品池

加入相同体积的小牛胸腺 DNA 溶液, 检测配合物的吸收光谱变化.

(2) 荧光淬灭滴定. 将 1 $\text{mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$ 的配合物溶液与 10 $\text{mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$ 的 DNA 溶液 (预先与 0.2 $\text{mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$ EB 反应一段时间) 作用, 测定荧光强度.

(3) 琼脂糖凝胶电泳. 电泳液为 pH = 8.0 的 Tris 缓冲溶液, $\rho = 1\%$ 琼脂糖凝胶, 溴酚兰作为电泳过程中的指示标志. 在 40V, 15 mA 的恒压恒流下电泳, 用 Kodak DC 40/120 凝胶自动成像分析系统分析产物.

2 结果与讨论

从图 2 中可以看出, 配合物在 Tris 缓冲液中的吸收光谱在 301 nm 和 260 nm 左右出现 2 个一弱一强的吸收峰, 加入 DNA 后, 红移的程度较小 ($< 1 \text{ nm}$), 但吸收光谱发生了明显的减色效应 (减色率分别为 25.3% 和 15.7%), 说明该大环双核铜配合物有可能通过插入方式与 DNA 发生了作用.

荧光淬灭滴定结果 (见图 3) 表明, EB 与 DNA 结合后产生的荧光强度很强, 在加入大环铜配合物后, 其荧光强度降低, 说明大环铜配合

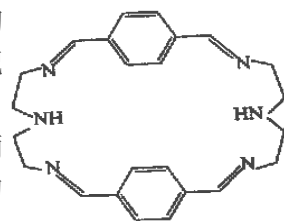


图 1 配体 L 的结构

Fig 1 The structure of L

* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30070188, 29801005)

收稿日期: 2001-08-24; 作者简介: 刘捷 (1970-), 女, 博士研究生; 通讯联系人: 计亮年.

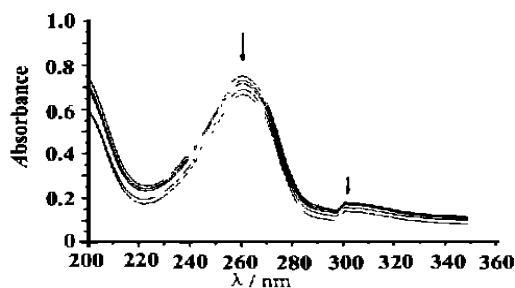


图 2 DNA 对配合物紫外可见光谱的影响

Fig. 2 UV-Vis spectra of the complex in the absence (—) and presence (---) of increasing amounts of DNA

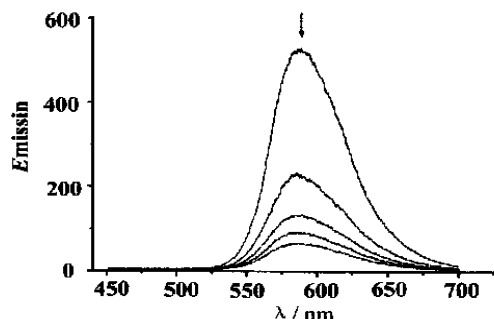


图 3 配合物与 EB 对 DNA 的竞争结合

Fig. 3 Competitive bound of the complex and EB on DNA
物与 EB 对 DNA 双螺旋竞争结合, 从而取代下来部分 EB, 使其荧光强度降低。

电泳图(图 4)表明, pUC18 DNA + 大环铜配合物、pUC18 DNA + 大环铜配合物 + 巯基乙醇、pUC18 DNA + H₂O₂、pUC18 DNA + 巯基乙醇均无法断裂 DNA。只有在 H₂O₂ 的存在下, 大环双核铜配合物才能使 pUC18 DNA 从闭环超螺旋的 Form I 完全断裂成开环缺刻型的 Form II。进一步说明

了该大环双核铜配合物是以插入模式与超螺旋质粒 DNA 作用, 引起 DNA 闭环超螺旋的解旋。



图 4 电泳图

Fig. 4 Electrophoresis

- 0 DNA; 1 DNA+complex;
2~3 DNA+complex+H₂O₂; 4 DNA+H₂O₂;
5~6 DNA+complex+sulfhydryl alcohol;
7 DNA+sulfhydryl alcohol;
8 DNA+complex+sulfhydryl alcohol+H₂O₂

从以上结果看出, 本文合成的二十六元环双核铜配合物能有效地断裂 DNA 螺旋双链, 初步证实了该配合物作为化学核酸酶的可能性。进一步的研究工作正在进行之中。

参考文献:

- [1] SIGMAN D S, MAZUMDER A, PERRIN D M. Chemical nucleases[J]. Chem Rev, 1993, 93: 2295—2325.
- [2] DILLIP K C, HANS-JORG S, JUAN A A, et al. Copper complexes of polyaza cyclophanes and their interaction with DNA and RNA[J]. Inorg Chim Acta, 2001, 316: 71—78.
- [3] CHEN D, MARTELL A E. The synthesis of new binucleating polyaza macrocyclic and macrobicyclic ligands: dioxygen affinities of the cobalt complexes[J]. Tetrahedron, 1991, 47: 6895—6902.

Interaction Between Dinuclear Copper (II) Complex with a 26-Membered Hexaazamacrocyclic and DNA

LIU Jie¹, ZHOU Hui², XU Ruan-cheng³, QU Liang-hu², JI Liang-nian

(1. School of Chemistry and Chemical Engineering, Zhongshan University, Guangzhou 510275, China;

2. The Key Laboratory of Gene Engineering of Ministry of Education, Guangzhou 510275, China;

3. The PLA 60 Hospital of Jiaozuo, Henan Jiaozuo 454003, China)

Abstract: The macrocyclic dinuclear copper (II) complex Cu₂LCl₄·3H₂O was synthesized and characterized by element analysis and IR. The binding of the complex with calf thymus DNA was investigated by absorption and fluorescence spectroscopies. The spectroscopic studies suggested the complex intercalates CT DNA. The cleavage of pUC18 DNA induced by the complex showed the macrocyclic complex might to be act as an efficient chemical nuclease.

Keywords: macrocyclic dinuclear copper (II) complex; DNA; UV-visible; fluorescence quenching; chemical nuclease