

钌多吡啶配合物的合成及与 DNA 作用研究^{*}

杨 光 吴建中 王 雷 曾添贤 计亮年

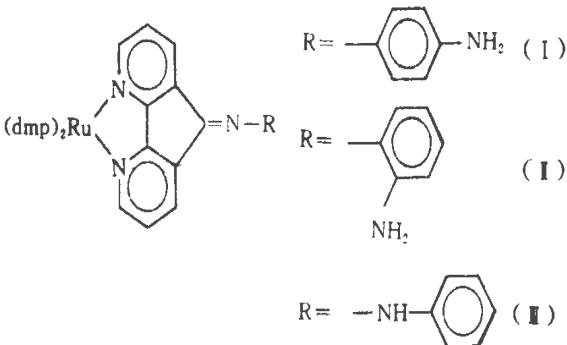
(中山大学 化学系, 广州 510275)

摘 要 以 $(\text{dmp})_2\text{RuAF}^{\text{O}^+}$ (dmp 为 2, 9-二甲基邻菲咯啉, AF^{O} 为 4, 5-二氮杂芴酮) 为中间体, 分别与对苯二胺、邻苯二胺和苯肼反应, 合成了 3 种新的钌(II) 多吡啶配合物 $[(\text{dmp})_2\text{RuL}]^+$ (L 为二氮杂芴酮的衍生物), 并用元素分析、电子光谱和红外光谱等手段进行表征. 用吸收光谱法, 平衡透析和圆二色谱等方法对配合物与小牛胸腺 DNA 的相互作用进行研究, 推测了配合物与 DNA 的结合模式.

关键词 钌多吡啶配合物, 小牛胸腺 DNA, 结合模式, 合成

分类号 O 614. 821

八面体钌(II) 多吡啶类配合物是一类较新的 DNA 作用试剂, 这些配合物可以用作 DNA 二级结构探针、DNA 特异识别和裂解试剂^[1, 2]. 至于配合物与 DNA 的结合模式目前尚无定论, 但提出“形状选择”规则 (Shape selection) 作为识别 DNA 的基础^[3], 即配合物是根据其本身的形状、对称性及旋光性质与核酸特定部位相匹配的原则对 DNA 或 RNA 进行识别的. 因此, 合成形状各异的钌配合物对于了解 DNA 配合物结合模式及寻找新型 DNA 识别、切割试剂均有重要意义. 本文合成了几种八面体钌(II) 多吡啶配合物, 对其与小牛胸腺 DNA 的相互作用进行了研究, 发现配合物根据其本身的结构可能与 DNA 以非插入方式或插入方式相结合.



1 实验部分

1.1 仪器和试剂

C, H, N 含量用 Perkin-Elmer 240 型元素分析仪测定, UV-Vis 光谱用 Shimadzu M PS-2000 紫外可见分光光度计测定, IR 谱在 Nicolet 170 X-FT 红外谱仪上记录, KBr 压片.

小牛胸腺 DNA 为上海长阳制药厂产品, 用光谱法确定 DNA 的浓度, 260 nm 处 $\text{E}_{1\%}^{1\text{cm}}$

^{*} 国家自然科学基金 (29570033) 和国家教委博士点基金资助项目

收稿日期: 1996-04-18 杨光, 男, 28 岁, 博士

$600\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$.实验中所用小牛胸腺 DNA 的 $A_{260}:A_{280}>1.8$.DNA 测试使用 Tris-缓冲液 (5 mmol/L 三羟甲基氨基甲烷, 50 mmol/L NaCl, $\text{pH}=7$)^[4].

平衡透析实验参照文献 [4] 进行,小牛胸腺 DNA 在使用前先对缓冲液进行透析,以除去小的核酸片断,透析实验中,钌配合物浓度为 $5\times 10^{-4}\text{ mol/L}$,小牛胸腺 DNA 浓度为 10^{-3} mol/L ,透析时间为 48 h.在配合物Ⅲ透析实验中,所用缓冲溶液含有 10% 的 DMSO,以增加该配合物的溶解性.透析后的透析液在 Jasco J-20C 光谱极化仪上测量 CD 谱.

1.2 合成方法

1.2.1 [(dmp)₂RuCl₂] $\cdot$ H₂O 的合成 参照文献方法^[5]

1.2.2 [(dmp)₂Ru(AFO)](ClO₄)₂ $\cdot$ H₂O 的合成 0.5 mmol(0.303 g) [(dmp)₂RuCl₂] $\cdot$ H₂O 与 0.5 mmol(0.091 g) 4,5-二氮杂芴酮加入到 20 mL 水-乙醇中 (1:1),氩气保护下,回流 10 h,趁热过滤,滤液中加入过量的 NaClO₄ 水溶液,析出沉淀,抽滤,烘干,粗品用乙腈水溶液重结晶,得紫红色晶体.

1.2.3 配合物Ⅰ的合成 0.1 mmol(0.092 g) [(dmp)₂Ru(AFO)](ClO₄)₂ 与 0.5 mmol 对苯二胺 (0.054 g) 溶于 20 mL 乙腈-乙醇混合溶剂中 (1:1),再加入几滴冰醋酸,氩气保护下,回流 10 h,蒸去大部分溶剂,加乙醚析出沉淀,柱层析 (Al₂O₃, 甲苯-乙腈),用乙腈-乙醚扩散法提纯.

1.2.4 配合物Ⅱ、Ⅲ的合成 方法同上,分别用邻苯二胺代替对苯二胺合成Ⅱ.用苯肼代替对苯二胺合成Ⅲ.Ⅲ的纯化不用柱层析法,因为实验中发现柱层析时,配合物有可能分解,用乙腈-乙醚扩散法来提纯.

2 结果及讨论

2.1 配合物的组成和性质

配合物的元素分析值列于表 1,从表 1 中可知理论值与计算值相符.

表 1 配合物的元素分析值
Tab. 1 The elemental analytical data of the complexes %

配合物	w _C	w _H	w _N
[(dmp) ₂ Ru(AFO)](ClO ₄) $\cdot$ H ₂ O	50.86(51.09)	3.44(3.49)	9.08(9.17)
Ⅰ $\cdot$ 1.5H ₂ O	52.63(53.20)	3.55(3.84)	11.37(11.03)
Ⅱ $\cdot$ 2.5H ₂ O	51.97(52.27)	3.63(3.97)	10.58(10.84)
Ⅲ	54.16(54.65)	3.82(3.64)	12.08(11.34)

括号内数值为计算值

配合物的吸收光谱及红外光谱数据列于表 2

红外光谱数据为配合物Ⅰ,Ⅱ,Ⅲ的生成提供了证据.中间体 [(dmp)₂Ru(AFO)]²⁺ 的 C=O 伸缩振动峰在 $1\,740\text{ cm}^{-1}$ 出现,而配合物Ⅰ,Ⅱ,Ⅲ的红外光谱中,此峰均消失,而在 $1\,620\text{ cm}^{-1}$ 有一红外谱峰.把这个峰归属为 C=N 伸缩振动峰^[6].还应指出的是,配合物Ⅲ的 $\nu_{\text{C-N}}$ 峰比较弱,原因不十分清楚,可能与该配体为脞类化合物有关.

表 2 配合物的吸收光谱及红外光谱数据
Tab. 2 Data of electronic and IR spectra of the complexes

配合物	$\lambda_{\max}$ /(nm)	$\epsilon \times 10^{-4} /$		$\nu_{\max} / \text{cm}^{-1}$	归属
		mol^{-1}	$\text{L}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$		
$[(\text{dmp})_2 \text{Ru}(\text{AFO})]^{2+}$	460	2.0		1 740	C= O
I	468	1.9		1 623	C= N
II	460	1.9		1 620	C= N
III	465	10.1		1 624	C= N

配合物在 460 nm附近均有较强的吸收峰,相应于 $\text{d}\pi \rightarrow \pi^*$ (L)的跃迁,即 MLCT跃迁.

2.2 DNA结合后吸收光谱的变化

Ru(II)多吡啶配合物的 MLCT跃迁,对周围环境变化较为敏感. DNA加入后,视其与配合物不同的结合模式,会对配合物的电子结构产生微扰,进而使吸收光谱发生变化.因而吸收光谱法是检验配合物与 DNA结合的一种常用而又简便的方法.表 3列出配合物在与 DNA结合前后吸收光谱的变化.

表 3 配合物与小牛胸腺 DNA作用时吸收光谱的变化
Tab. 3 Electronic spectroscopic data for the complexes binding to calf thymus DNA

配合物	吸收			减色效应 /%
	未结合	已结合	$\Delta\lambda$	
I	459	460	1	0
II	457	457	0	1
III	413	431	18	- 22
$\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$	452	452	0	0
$\text{Ru}(\text{phen})_2\text{dppz}^{2+ [7]}$	437	440	3	- 8
	373	378	5	- 23

dppz为二吡啶并 [3, 2- α 2', 3'-c 吩嗪;减色效应 = $(A - A_0) / A_0 \times 100$

由表 3可以看出: 配合物I ,II 在与 DNA结合后,吸收光谱变化不大,与 $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ 的情况较为相似.而 $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ 与 DNA结合时主要依靠静电引力^[7].配合物III与 DNA结合后,其电子结构受到较大的微扰,出现了大的吸收峰红移和减色效应,与 DNA插入试剂 $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$ 的情况极为类似^[7]. MLCT吸收峰红移和减色效应已作为衡量配合物与 DNA是否以插入模式相结合的判据^[8].所以,由吸收光谱数据,可推测: 配合物I 、II 可能不是以插入方式与 DNA结合的,而配合物III则主要为插入结合,即配体插入到 DNA碱基对之间,靠“堆积力”来稳定配合物-DNA加合物.

2.3 平衡透析和圆二色谱 (CD)测试

配合物对小牛胸腺 DNA经 48 h平衡透析后的圆二色谱图列于图 1中.由图 1可以看出配合物I 、II、III均出现了 CD信号.表明每种配合物的两种对映异构体(Δ 、 Λ),对 DNA的结合能力有差异,导致了透析液中富集了与 DNA结合力较弱的某种对映异构体.由于本

文所报导的配合物均未经过拆分,目前还得不到两种对映异构体单独存在时的 CD 光谱.因而无法确认究竟是何种异构体优先与 DNA 结合.但透析液有 CD 信号这一事实说明本文所合成的配合物 I、II、III 与小牛胸腺 DNA 结合时具有立体选择性.

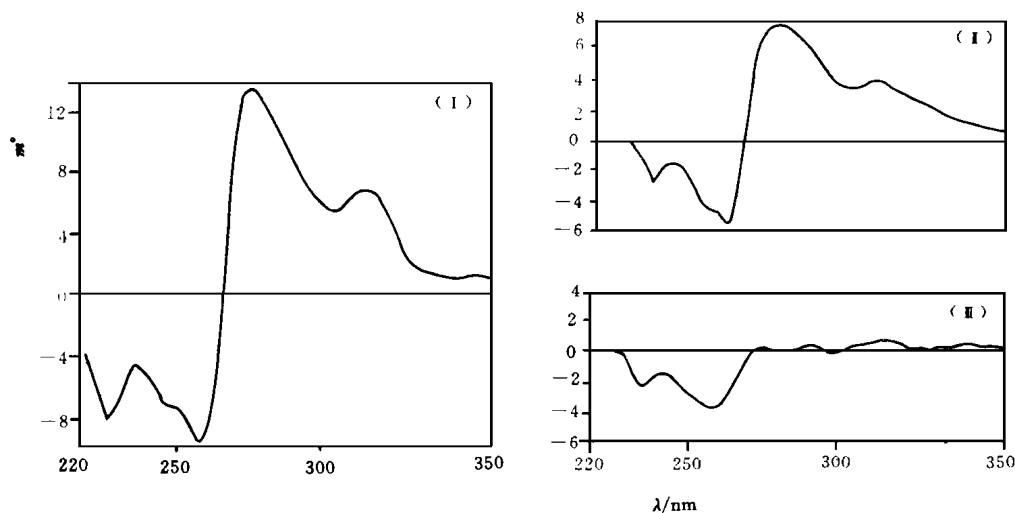


图 1 配合物经过 48 h 透析后的 CD 光谱

Fig. 1 CD spectra of the complexes after 48 h dialysis versus calf thymus DNA

2.4 结合模式

对于配合物 I、II 来说,吸收光谱红移及减色效应均较小,说明这两个配合物没有以插入方式与 DNA 结合.另一方面,I、II 的透析液有 CD 谱,说明这两种配合物与 DNA 的结合,不仅仅是依靠静电作用.可推测配合物 I、II 与 DNA 的结合模式属非插入结合.关于非插入结合,有面式结合模型^[1]和与之相反的模型^[9].目前对于非插入方式结合的具体结构尚有争论.要建立一个明确的模型,尚需做进一步的研究.

配合物 III 与 DNA 结合后,出现 MLCT 吸收峰红移和较大的减色效应,说明配合物 III 可能以插入方式与 DNA 结合. dmp 不是插入配体,插入部分很可能是脲型配体上的苯环.

配合物 I、II、III 的结合方式是由配合物的结构所决定的.配合物 I、II 的希夫碱配体上的苯环均有较大的取代基 (NH_2), 使该配体不可能插入到 DNA 的碱基对之间,而配合物 III 则不同,其脲型配体上的苯环没有取代基,可与 DNA 的碱基对通过分子间的“堆积力”结合.另外脲型配体相对较“长”(含有 $-\text{C}=\text{NNH}-$ 结构),因而辅助配体 (dmp) 和 DNA 骨架 (如磷酸酯、戊糖) 的排斥作用也较弱,这也许是苯环与 DNA 碱基对堆积的另一个有利因素.

参 考 文 献

- 1 Pyle A M, Barton J K. Probing nucleic acids with transition metal complexes. *Prog Inorg Chem Chem*, 1990, 38 413
- 2 Sigman D S, Mazumder A, Perrin D M. Chemical nucleases. *Chem Rev*, 1993, 93 2295
- 3 Sitlani A, Long E C, Pyle A M, et al. DNA photocleavage by phenanthrenequinone diimine complexes of rhodium(III): Shape-selective recognition and reaction. *J Am Chem Soc*, 1992, 114 2303
- 4 Barton J K, Danishefsky A T, Goldberger J M. Tris(1,10-phenanthroline) ruthenium(II): Stereoselectivity in binding to DNA. *J Am Chem Soc*, 1984, 106 2172
- 5 Collin J P, Sauvage J P. Synthesis and study of mononuclear ruthenium(II) complexes of sterically hindering diimine chelates. *Inorg Chem*, 1986, 25 135
- 6 El-Hendaway A M, Alkubaisi A H, El-Kourashy A E-G, et al. Ruthenium(II) complexes of O, N-donor Schiff base ligands and their use as catalytic organic oxidants. *Polyhedron*, 1993, 12 2343
- 7 王雷. 钌多吡啶类配合物的合成、表征及与 DNA 的作用: [博士论文]. 广州: 中山大学化学系, 1995
- 8 Pyle A M, Rehmann J P, Kumar C V, et al. Mixed-ligand complexes of ruthenium(II): Factors governing binding to DNA. *J Am Chem Soc*, 1989, 111 3051
- 9 Eriksson M, Leijon M, Hjort C, et al. Binding of Δ - and Λ -Ru(phen)₃²⁺ to [d(CGCGATCGCG)]₂ studied by NMR. *Biochemistry*, 1994, 33 5031

Synthesis of Ruthenium(II) Polypyridine Complexes and Study of the Interaction Between the Complexes and Calf Thymus DNA

Yang Guang* Wu Jianzhong Wang Lei Zeng Tianxian Ji Liangnian

Abstract A series of new ruthenium(II) polypyridine complexes [(dmp)₂RuL](ClO₄)₂ have been prepared by reaction of [(dmp)₂Ru(AFO)]²⁺ with *p*-phenylene diamine, *o*-phenylene diamine, phenylhydrazine respectively (dmp= 2, 9-dimethyl-1, 10-phenanthroline; AFO= 4, 5-diazafluoren-9-one). They were characterized by elemental analyses, UV-vis, IR spectra. The binding of the complexes on to calf thymus DNA has been investigated by absorption spectra, equilibrium dialysis and circular dichroism spectroscopy. The binding modes are suggested based upon the experimental results.

Keywords ruthenium polypyridine complex, calf thymus DNA, binding mode, synthesis

* Department of Chemistry, Zhongshan University, Guangzhou: 510275