

王璐,段冉冉,赵盼,等.含2-氨基甲基苯并咪唑铜(Ⅱ)配合物的合成、表征、抑菌活性及与DNA作用的研究[J].华南农业大学学报,2014,35(2):90-95.

# 含2-氨基甲基苯并咪唑铜(Ⅱ)配合物的合成、表征、抑菌活性及与DNA作用的研究

王璐<sup>1</sup>,段冉冉<sup>1</sup>,赵盼<sup>1</sup>,周晓华<sup>1,2</sup>

(1 华南农业大学理学院,广东广州 510642;2 华南农业大学生物材料研究所,广东广州 510642)

**摘要:**【目的】为了设计和寻找DNA的特异性识别剂和断裂剂,合成了2-氨基甲基苯并咪唑铜(Ⅱ)配合物:[Cu(AMB)<sub>2</sub>Cl]Cl·4H<sub>2</sub>O(配合物1)和[Cu(AMB)(phen)Cl]Cl·2H<sub>2</sub>O(配合物2)(AMB=2-氨基甲基苯并咪唑,phen=1,10-邻菲咯啉).【方法】通过元素分析、IR、UV和摩尔电导率对配合物进行了表征.用二倍稀释法测试了配合物对大肠埃希菌*Escherichia coli*(G-)、沙门杆菌*Salmonella typhi*(G-)、金黄色葡萄球菌*Staphylococcus aureus*(G+)和枯草芽孢杆菌*Bacillus subtilis*(G+)的最小抑菌浓度(MIC).采用电子吸收光谱、荧光光谱、相对黏度及琼脂糖凝胶电泳法测试了2个配合物与ct-DNA的结合作用.【结果和结论】配合物1以非插入方式、配合物2以插入方式与ct-DNA作用;在V<sub>c</sub>存在下,2个配合物均通过·OH氧化机理切割pBR322 DNA.2个配合物结合ct-DNA和切割pBR322 DNA的能力强弱均为:配合物2>配合物1.

**关键词:**铜(Ⅱ)配合物;2-氨基甲基苯并咪唑;1,10-邻菲咯啉;抑菌活性;DNA

中图分类号:O0641.4

文献标志码:A

文章编号:1001-411X(2014)02-0090-06

## Syntheses, characteristics, bacteriostatic activities and their interaction with DNA of copper(Ⅱ) complexes containing 2-aminomethylbenzimidazole

WANG Lu<sup>1</sup>, DUAN Ranran<sup>1</sup>, ZHAO Pan<sup>1</sup>, ZHOU Xiaohua<sup>1,2</sup>

(1 College of Sciences, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China;

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

**Abstract:**【Objective】In order to design and find specific recognition and cleavage agent of DNA, two copper(Ⅱ) complexes, [Cu(AMB)<sub>2</sub>Cl]Cl·4H<sub>2</sub>O (complex 1) and [Cu(AMB)(phen)Cl]Cl·2H<sub>2</sub>O (complex 2) (AMB = 2-aminomethylbenzimidazole, phen = 1,10-phenanthroline), were synthesized.【Method】The two complexes were characterized by elemental analysis, IR, UV and molar conductivity. The complex 1 and complex 2 were assayed against gram-positive bacteria (*Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis*) and gram-negative bacteria (*Escherichia coli* and *Salmonella typhi*) by a double dilution method, and the interaction with ct-DNA was investigated by electronic absorption spectroscopy, fluorescence spectroscopy, viscosity measurements and agarose gel electrophoresis.【Result and conclusion】The complex 2 could interact with DNA by non-intercalation, while complex 1 by non-intercalation, and they cleave pBR322 DNA assisted by vitamin C involving the hydroxyl radical oxidation mechanism. The order of combination ability with ct-DNA and cleaving pBR322 DNA of the two complexes is complex 2 > complex 1, which is in accordance with the bacteriostatic activity.

收稿日期:2013-02-21 优先出版时间:2014-01-03

优先出版网址:<http://www.cnki.net/kcms/detail/44.1110.S.20140103.0831.030.html>

作者简介:王璐(1988—),女,硕士研究生, E-mail:lululang7@126.com;通信作者:周晓华(1970—),女,副教授,硕士, E-mail:zhouxiaohua1970@163.com

基金项目:华南农业大学“211工程”三期重点建设项目(2009B010100001)

**Key words:** copper(II) complex; 2-aminomethylbenzimidazole; 1,10-phenanthroline; bacteriostatic activity; DNA

设计配合物分子的形状、对称性以及官能团结构,使其与DNA分子匹配,从而对DNA进行特异性识别,这一系列的研究工作是寻找新型DNA结构探针、DNA断裂剂、化学核酸酶和杀菌剂的研究基础,已引起科学界的广泛重视<sup>[1-3]</sup>。研究表明,DNA特异性结合剂Lexitropsin分子中都含有咪唑、吡咯和噻唑氨基基团<sup>[4]</sup>。2-取代苯并咪唑是苯并咪唑的重要衍生物,其化学和生物活性往往高于其他位置取代的衍生物。其中,2-氨基甲基苯并咪唑(AMB)在结构上非常类似咪唑、嘌呤碱和嘧啶碱等生物配体,能与生物酶和受体等形成氢键、发生疏水作用和π-π相互作用,且具有良好的抗寄生虫、抗癌和抗菌等活性<sup>[5-8]</sup>。目前含AMB配体的配合物虽已有一些报道<sup>[7-11]</sup>,但大多只研究了晶体结构、热稳定性和光学性质,AMB与DNA的特异性识别研究报道很少<sup>[8-9]</sup>。因此研究AMB-过渡金属(II)配合物不仅有助于了解其结构与生物活性的关系,而且为设计DNA的特异性识别剂和断裂剂奠定理论依据。本文以AMB作主配体,以邻菲咯啉(phen)为辅配体,合成了2个配合物:[Cu(AMB)<sub>2</sub>Cl]Cl·4H<sub>2</sub>O(配合物1)和[Cu(AMB)(phen)Cl]Cl·2H<sub>2</sub>O(配合物2)。通过元素分析、IR、UV和摩尔电导率等方法对配合物进行了组成和结构表征。用二倍稀释法测试了2个配合物的最小抑菌浓度(MIC),用紫外光谱(UV-Vis)、荧光光谱、相对黏度及琼脂糖凝胶电泳法初步研究了配合物与小牛胸腺DNA(ct-DNA)的相互作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器与试剂

上海宇隆仪器有限公司 DDS-12A型电导率仪;美国 Nicolet 360 FT-IR 型红外光谱仪(KBr压片);德国 Elementar Vario EL Cube 元素分析仪;日本岛津 UV-2550 型紫外/可见分光光度计;日本岛津 RF-5301PC 荧光光谱仪;上海晶菱玻璃有限公司乌氏黏度计;大连捷迈科贸有限公司凝胶电泳池;意大利米兰 BIO-RAD Laboratories-Segrat公司BIO-RAD 凝胶成像系统。

AMB·2HCl 参照文献[12]合成。ct-DNA、Tris、溴化乙啶(EB)、琼脂糖凝胶和 pBR322 DNA 为生化试剂,其他试剂为分析纯。

### 1.2 配合物的合成

配合物1:称取1 mmol AMB·2HCl溶于10 mL

蒸馏水中,并用NaOH调pH7~8,加入0.5 mol·L<sup>-1</sup> CuCl<sub>2</sub>溶液1.0 mL,反应10 min,并调pH 4.8,50℃条件下加热搅拌15 min,冷却至室温,过滤,室温静置1 d后析出蓝色固体1,过滤并依次用少量水和乙醇洗涤后干燥。

配合物2:合成方法与配合物1相似。按照n(Cu):n(AMB):n(phen)=1:1:1投料,在合成配合物1的反应液中加入5 mL phen乙醇溶液。反应液在室温放置1周后析出蓝色晶体2,过滤,洗涤,干燥。

### 1.3 配合物的抑菌活性

通过二倍溶液稀释法测定了配合物1和配合物2的最小抑菌浓度(MIC)。受试菌种为2种革兰阴性菌(大肠埃希菌 *Escherichia coli* 和沙门杆菌 *Salmonella typhi*)和2种革兰阳性菌(金黄色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus* 和枯草芽孢杆菌 *Bacillus subtilis*)。

### 1.4 配合物与ct-DNA的相互作用

配合物与ct-DNA相互作用研究均在pH 7.2的Tris-HCl/NaCl缓冲液中进行。缓冲液含5 mmol·L<sup>-1</sup> Tris 和 50 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl。琼脂糖凝胶电泳试验中,每升TBE电泳缓冲液(pH 8.3)含0.045 mol Tris、0.45 mol H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 和 1 mol EDTA。ct-DNA的浓度参照文献[13]确定。

1.4.1 紫外光谱 将0.062 5 mmol·L<sup>-1</sup>配合物溶液3 mL和Tris-HCl / NaCl缓冲溶液3 mL分别加入样品比色皿和空白比色皿中,再分别加入等体积的ct-DNA溶液,每次充分摇匀静置15 min后,在200~400 nm扫描配合物的紫外光谱。

1.4.2 荧光光谱 当含5.5 μmol·L<sup>-1</sup> ct-DNA和4.8 μmol·L<sup>-1</sup> EB混合溶液的荧光强度达到稳定后,逐步增加配合物的浓度,在λ<sub>ex</sub>=525 nm和ν<sub>scan</sub>=240 nm·s<sup>-1</sup>下,在550~650 nm测定混合溶液的荧光强度。

1.4.3 黏度 在c(ct-DNA)=0.2 mmol·L<sup>-1</sup>下,依次增大配合物浓度,在(29.0±0.1)℃下,测定DNA-配合物缓冲溶液流过毛细管所需时间(t),计算比黏度(η):

$$\eta = (t - t_0) / t_0, \quad (1)$$

其中,t<sub>0</sub>为缓冲溶液流过毛细管所需时间。

ct-DNA溶液的比黏度以η<sub>0</sub>表示。以c(配合物)/c(ct-DNA)为横坐标,以(η/η<sub>0</sub>)<sup>1/3</sup>为纵坐标作图,分析配合物与DNA的结合方式。

1.4.4 配合物对pBR322 DNA的切割作用 将配

合物、 $V_c$ (浓度是配合物的30~70倍)与pBR322 DNA(200 ng)混合,用Tris-HCl / NaCl缓冲液定容至20  $\mu\text{L}$ ,在37 °C恒温条件下静置1 h后,加入3  $\mu\text{L}$  Loading buffer,在8 g · L<sup>-1</sup>琼脂糖凝胶和TBE电泳液中,用100 V电压电泳40 min。用Gold View(4~5  $\mu\text{L}$ )作着色剂,以溴酚蓝为指示剂,在紫外检测仪下观察并拍照。在上述混合体系中分别加入活性氧抑制剂·OH抑制剂[二甲基亚砜(DMSO),4  $\mu\text{L}$ ]、

$^1\text{O}_2$ 抑制剂[2,2,6,6-四甲基-4-哌啶酮(TMP)、NaN<sub>3</sub>,100  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ]},通过电泳带的变化探索配合物对质粒DNA的切割机理。

## 2 结果与分析

### 2.1 配合物的组成和结构

配合物1和配合物2的化学式、化学元素分析数据和摩尔电导率( $\Lambda_m$ )列于表1。

表1 配合物的元素组成分析

Tab. 1 The elemental analysis of the complex

配合物	化学式	w(C)/%		w(H)/%		w(N)/%		$\Lambda_m/(S \cdot \text{cm}^2 \cdot \text{mol}^{-1})$	电解质类型
		测定值	计算值	测定值	计算值	测定值	计算值		
1	C <sub>16</sub> H <sub>26</sub> N <sub>6</sub> O <sub>4</sub> CuCl <sub>2</sub>	38.08	38.37	5.42	5.23	16.42	16.78	125.6(甲醇)	1:1
2	C <sub>20</sub> H <sub>21</sub> N <sub>5</sub> Cl <sub>2</sub> CuO <sub>2</sub>	48.57	48.25	4.17	4.25	14.50	14.07	131.6(甲醇)	1:1

在室温条件下的甲醇溶液中,配合物1和配合物2的摩尔电导率数据表明2个配合物在甲醇中是1:1型电解质<sup>[14]</sup>。即Cu<sup>2+</sup>与配体形成的配阳离子与抗衡离子Cl<sup>-</sup>在甲醇中按1:1解离。

配体和配合物的IR和UV-Vis光谱数据及其分析指认归纳于表2中。从表2可以看出,配体AMB的 $\nu_{N-H}$ 在配合物1和配合物2中都向低波数方向发生了移动,结合苯并咪唑的 $\nu_{C=C}$ , $\nu_{C=N}$ 和 $\gamma_{C-H}$ 的峰位

变化,说明AMB的—NH<sub>2</sub>氮和苯并咪唑环的氮都参与了配位,这与文献[7~9]的报道一致。在配合物2中,虽然 $\nu_{N-H}$ 和 $\nu_{O-H}$ 重叠在一起,但在1600 cm<sup>-1</sup>左右的2个 $\nu_{C=C}$ , $\nu_{C=N}$ 的峰位相对于配合物1发生了位移,而且在指纹区出现了3个中强度的吸收峰,其峰位均低于配体,但又不同于配合物1。由此说明:在配合物2中phen和AMB都与Cu<sup>2+</sup>发生了配位作用<sup>[15]</sup>。

表2 配合物与配体的IR和UV-Vis吸收峰归属

Tab. 2 The attribution of the IR & UV-Vis absorption peaks of the complex and the ligand

化合物	IR			UV-Vis		
	$\nu_{O-H}, \nu_{N-H}/\text{cm}^{-1}$	$\nu_{C=C}, \nu_{C=N}/\text{cm}^{-1}$	$\gamma_{C-H}/\text{cm}^{-1}$	$\lambda/\text{nm}$	$\pi \rightarrow \pi^*$	$d \rightarrow d^*$
AMB · 2HCl	3480, 3313	1625	885, 772	229	260	280
phen · H <sub>2</sub> O	3365	1656, 1506	864, 775, 662	220	262	
配合物1	3404, 199	1626, 1592	842, 749	235	270	277
配合物2	3404	1622, 1583	852, 746, 728	224	271	713

在UV-Vis光谱中,配合物1和配合物2的甲醇溶液在紫外光区和可见光区出现的吸收峰与文献[8]相近,说明配合物1和配合物2也为四方锥构型<sup>[7~8]</sup>。

综合上述IR、摩尔电导率、UV-Vis和元素分析结果,配合物1和配合物2的分子式分别为:[Cu(AMB)<sub>2</sub>Cl]Cl · 4H<sub>2</sub>O和[Cu(AMB)(phen)Cl]Cl · 2H<sub>2</sub>O,推测2个配合物的配位构型如图1所示。

### 2.2 配合物的抑菌活性

配合物1、配合物2和对照物的最小抑菌浓度见表3。从表3可以看出:对4种受试菌种,配合物1和

配合物2的抑菌活性明显高于CuCl<sub>2</sub>和AMB,说明AMB配位后与Cu(II)产生协同作用,提高了抑菌活

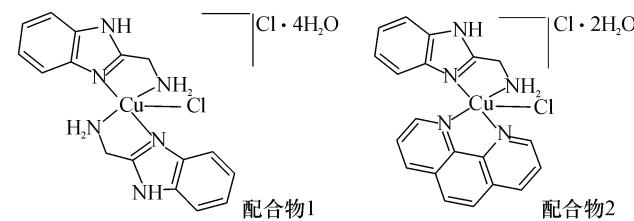


图1 推测的配合物1和配合物2的分子配位构型

Fig. 1 Speculated molecular structures of the complex 1 and 2

表3 配合物的抑菌活性

Tab. 3 The bacteriostatic activity of the complex for the assayed bacteria

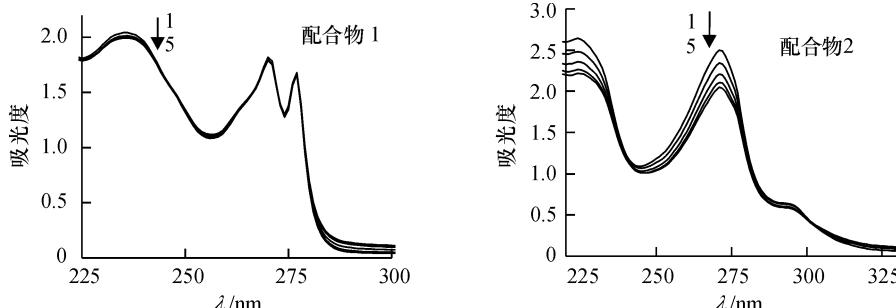
化合物	MIC / ( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )			
	大肠 埃希菌	沙门 杆菌	金黄色葡 萄球菌	枯草 杆菌
CuCl <sub>2</sub>	1024	1024	1024	1024
AMB	2048	2048	2048	2048
phen	64	32	32	64
配合物1	512	512	512	512
配合物2	64	64	32	64

性;配合物2的抑菌活性虽然比配合物1高,但是与phen相近。这可能是phen配体取代了配合物1的AMB后,配合物2的脂溶性提高且接近于phen的缘故。这一推测从配合物2在无水乙醇中的溶解性高于甲醇可以佐证。

### 2.3 配合物与DNA的相互作用

#### 2.3.1 紫外光谱 UV光谱的变化可以反映出配合

物与DNA结合后配体的电子结构受DNA扰动的情况。当配合物插入DNA碱基对或与DNA双螺旋沟槽中的碱基发生非共价结合时,可使π电子跃迁几率减小,会产生减色效应;另外,如果配离子带正电,其易靠近DNA槽内带负电的磷酸基,使得磷酸生色团内陷,也会降低小分子-DNA复合体系的紫外吸收。一般地,紫外吸收减色、吸收带红移和等色点的出现是小分子与DNA发生嵌插作用的光谱标志<sup>[16]</sup>。配合物1和配合物2与ct-DNA作用的紫外光谱如图2所示。从图2可见,随着c(ct-DNA)的增加,配合物1的紫外光谱只发生了轻微的减色效应,而配合物2发生了明显的减色并在300 nm附近出现了等色点。当c(ct-DNA)/c(配合物)=2.1时,在270 nm处配合物1的减色率仅为1.48%,而配合物2的减色率为18.0%。与DNA插入剂[Ru(bpy)<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup>(其中,L=phen、IP或PIP)的减色率12%~22%<sup>[17]</sup>比较,推测配合物1以非插入方式与DNA结合,而配合物2以插入方式结合DNA。



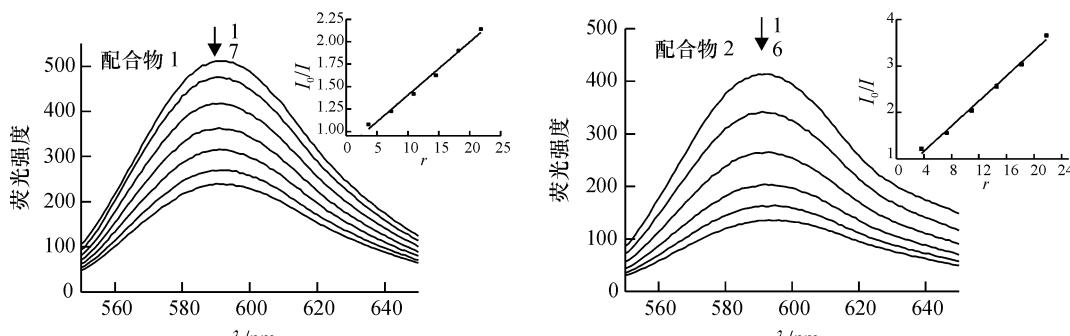
↓示随DNA浓度增加吸光度的变化趋势;c(配合物)=62.5  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,1~5的c(ct-DNA)依次为0、33.1、65.8、98.0、130.0  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

图2 配合物在不同DNA浓度下的紫外光谱图

Fig. 2 UV spectra of the complex upon addition of DNA

2.3.2 荧光光谱 EB分子中含有三环刚性平面,是弱荧光物质<sup>[1]</sup>,它可以嵌入DNA碱基对之间而使荧光显著增强。因此以EB作为DNA结构探针,可以研究金属配合物与DNA的作用方式。当其他分子与DNA作用,将EB从DNA的碱基对中挤出来时,

DNA/EB体系的荧光发生猝灭。配合物1和配合物2与ct-DNA作用的荧光光谱见图3。从图3可以看出,随着c(配合物)的增加,EB-DNA体系的荧光强度明显下降,说明配合物与EB-DNA结合后使EB从复合体系中逸出。



↓表示随着配合物浓度增加溶液荧光强度的变化趋势,小图为配合物滴定ct-DNA的I<sub>0</sub>/I对r图;1~7的c(配合物1)依次为0、19.65、39.15、58.50、77.70、96.75和115.65  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ;1~6的c(配合物2)依次为0、9.76、19.30、28.70、38.00和55.90  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

图3 配合物对EB-DNA体系荧光光谱的影响

Fig. 3 Effects of the complex on the fluorescence spectra of EB-DNA system

参考文献[17]所述方法,按照 Stern-Volmer 方程  $I_0/I = 1 + K_{sq}r$  ( $I$  和  $I_0$  分别为滴加和未滴加配合物时 EB-DNA 体系的荧光强度;  $r$  为配合物与 DNA 的浓度比;  $K_{sq}$  为猝灭常数),以  $I_0/I$  对  $r$  作图,获得的直线(图3中小图)斜率就是  $K_{sq}$ .  $K_{sq}$  越大,说明配合物对 EB-DNA 体系的猝灭程度越大,与 DNA 的作用越强。试验测得配合物 1 和配合物 2 对 EB-DNA 荧光体系的猝灭常数  $K_{sq}$  分别为 0.059 2 和 0.135 0,表明 2 个配合物均能与 ct-DNA 结合,结合强弱顺序为配合物 1 < 配合物 2. 这可能是由于配合物 2 中配体 phen 的刚性环面积大于 AMB, 疏水作用较强, 容易嵌入 DNA 碱基对间的缘故。

**2.3.3 黏度** 黏度法是检测在溶液中配合物与 DNA 结合模式的一种有效方法。一般地,如果配合物与 DNA 以静电、沟槽结合等非插入方式结合,DNA 双链受到的影响很小,则 DNA 溶液黏度变化不明显;如果配合物部分插入 DNA 碱基对之间,DNA 的双链会发生扭结缩短,则溶液的黏度减小;而如果配合物完全嵌入 DNA 碱基对间,DNA 的双链会被拉伸变长,则 DNA 溶液的黏度增加<sup>[18-19]</sup>. 随着配合物的加入,ct-DNA 溶液的比黏度变化见图 4. 从图 4 可以看出,随着配合物浓度的增大,配合物 1-DNA 复合体系的相对比黏度变化不大,而配合物 2-DNA 复合体系的相对比黏度增幅明显。这表明 2 个配合物与 ct-DNA 的结合方式不同:配合物 1 以静电或沟槽方式结合,而配合物 2 是以插入方式结合。这与前面 UV 和荧光光谱的结果吻合。

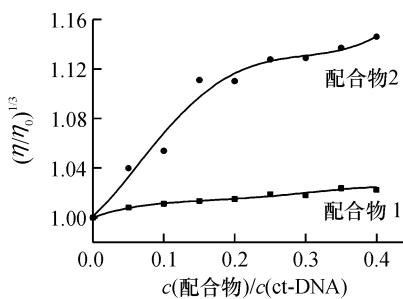
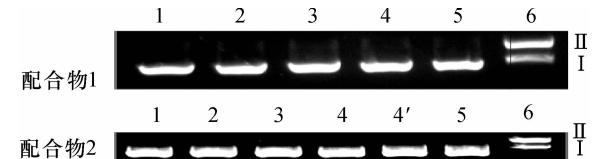


图 4 DNA 的相对比黏度随配合物加入量的变化

Fig.4 Effects of increasing amounts of complexes on the relative viscosity of DNA

**2.3.4 配合物对 pBR322 DNA 的断裂作用** 通常 pBR322 DNA 有 3 种构型: I 型—超螺旋型(完整的 pBR322 DNA); II 型—环形(1 条链上有一个切口); III 型—线型(在同一位置 2 条链断裂)。在电泳时,3 种构型的迁移速率存在明显差别,迁移速率大小顺序为: I 型 > III 型 > II 型。在恒温 37 °C 条件下,配合

物 1 和配合物 2 切割质粒 DNA 的琼脂糖凝胶电泳效果见图 5. 从图 5 可见,虽然在还原剂  $V_C$  存在下,  $CuCl_2$ 、AMB 和 phen 对 pBR322 DNA 均未显示出切割作用,但 2 个配合物却均能将 I 型 pBR322 DNA 切割成 II 型,切割能力为配合物 2 > 配合物 1.

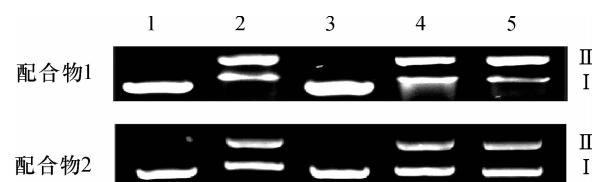


1: DNA; 2: DNA +  $V_C$ ; 3: DNA +  $V_C$  + AMB; 4: DNA +  $V_C$  +  $CuCl_2$ ; 4': DNA +  $V_C$  + phen; 5: DNA + 配合物; 6: DNA +  $V_C$  + 配合物; 其中:  $c(V_C)$  为  $1.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ; 配合物 1 中,  $c(AMB)$ 、 $c(CuCl_2)$ 、 $c(\text{配合物} 1)$  均为  $30 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ; 配合物 2 中,  $c(AMB)$ 、 $c(CuCl_2)$ 、 $c(\text{phen})$ 、 $c(\text{配合物} 2)$  均为  $15 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ .

图 5 配合物 1 和配合物 2 及配体切割 pBR322 DNA 的凝胶电泳图( $37^\circ\text{C}$ )

Fig.5 Agarose gel eletrophoresis for the cleavage of pBR322 DNA by the complex 1, 2 and the ligand at  $37^\circ\text{C}$

因  $Cu^{2+}$  具有氧化还原性,因此 Cu 配合物切割 DNA 大多涉及氧化机理<sup>[20]</sup>. 为进一步验证配合物是通过氧化机理切割 DNA, 在活性氧清除剂 DMSO、TMP 或  $\text{NaN}_3$  存在下, 测试了配合物 1 和配合物 2 对 pBR322 DNA 的切割作用(图 6).



1: DNA; 2: DNA +  $V_C$  + 配合物; 3: DNA +  $V_C$  + 配合物 + DMSO 4  $\mu\text{L}$ ; 4: DNA +  $V_C$  + 配合物 + TMP; 5: DNA +  $V_C$  + 配合物 +  $\text{NaN}_3$ . 其中,  $c(V_C)$  为  $1.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $c(TMP)$  和  $c(\text{NaN}_3)$  均为  $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $c(\text{配合物} 1)$  为  $30 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $c(\text{配合物} 2)$  为  $15 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ .

图 6 活性氧清除剂存在下配合物 1 和配合物 2 切割 pBR322 DNA 的凝胶电泳图

Fig.6 Cleavage of pBR322 DNA by the complex 1 and 2 in the presence of active oxygen scavenging agent

切割机理试验说明,在还原剂  $V_C$  存在下,配合物 1 和配合物 2 均能将 I 型 pBR322 DNA 切割成 II 型,而在加入  $\cdot OH$  抑制剂 DMSO 后,配合物 1 和配合物 2 对 pBR322 DNA 的切割作用明显被抑制(图 6 泳道 3);加入  $^1\text{O}_2$  抑制剂 TMP 或  $\text{NaN}_3$  后,切割作用基本没有变化,由此推测 2 个配合物可能通过羟基自由基氧化机理切割 pBR322 DNA. 这与文献[8,18-19]结果一致。

### 3 结论

本文合成了Cu(II)-AMB二元配合物和AMB-Cu(II)-phen三元配合物,通过元素分析、IR、UV-Vis和摩尔电导率对2个配合物进行了组成和结构表征,推测2个配合物的分子式分别为:[Cu(AMB)<sub>2</sub>Cl]Cl·4H<sub>2</sub>O(配合物1)和[Cu(AMB)(phen)Cl]Cl·2H<sub>2</sub>O(配合物2)。

光谱法和黏度法的研究结果表明:配合物1和配合物2分别以非插入方式和插入方式与ct-DNA结合,结合能力为配合物2>配合物1。

琼脂糖凝胶电泳试验说明,在V<sub>c</sub>作用下2个配合物都可通过·OH机理断裂pBR322 DNA。

配合物1和配合物2对大肠埃希菌、沙门杆菌、金黄色葡萄球菌和枯草杆菌的抑制作用高于AMB,配合物2的MIC与phen相近,抑菌活性表现为配合物2>配合物1.2个配合物的抑菌活性强弱次序与结合DNA的强弱次序刚好一致,二者是否存在关联还需深入研究。

#### 参考文献:

- [1] 宋宇飞,杨频.对DNA具有识别和断裂功能的金属插入剂的研究[J].化学进展,2001,13(5):368-375.
- [2] 胡亚敏,王兴明,张欢.金属配合物与DNA相互作用的研究进展[J].化学与生物工程,2007,24(8):1-4.
- [3] LIU Hongke, SADLER P J. Metal complexes as DNA intercalators[J]. Acc Chem Res, 2011, 44(5):349-359.
- [4] 曾文亮,徐文方,张玲.抗肿瘤药物DNA小沟区结合剂的研究进展[J].中国药物化学杂志,2004,14(5):307-313.
- [5] 陈岚,魏宁宁,高洁,等.2-取代苯并咪唑类化合物的合成及其抑菌活性[J].农药学学报,2011,13(5):448-452.
- [6] MALA N, PRAMENDRA K S, ASHOK K. Synthesis, structural characterization, biological activity and thermal study of triand diorganotin(IV) complexes of Schiff base derived from 2-aminomethylbenzimidazole[J]. Appl Organomet Chem, 2009, 23(11):434-445.
- [7] CUEVA I S, SICILIA A G, GONZÁLEZ J M, et al. New mixed-ligand copper(II) complex as a model for the metal-binding role of 2-aminomethylbenzimidazole, a chelating anchor group used in ion-exchanger polymers: Synthesis, molecular and crystal structure and properties of (2-aminomethylbenzimidazole)(iminodiacetato)copper(II), [Cu(IDA)(2AMBzImH)][J]. React Funct Polym, 1998, 36: 211-216.
- [8] 赵盼,吴海雷,王璐,等.2-氨基甲基苯并咪唑-铜(II)-羧酸配合物的合成、抗菌活性及与DNA的作用[J].化学研究与应用,2011,23(11):1482-1488.
- [9] JORDI G S, MARÍA J P, MERCE F B, et al. Crystal structure and DNA interaction of the facial-type rac-tris[2-(aminomethyl) benzimidazole] cobalt(III) complex[J]. Inorg Chem, 2006, 45(25): 10031-10033.
- [10] WU Hongyan, LI Hong, ZHU Baolin, et al. The synthesis and crystal structures of new 2-aminomethylbenzimidazole Zinc(II) complexes exhibiting luminescence[J]. Trans Met Chem, 2008,33(1):9-15.
- [11] HE Yi, KOU Huizhong, WANG Ruji, et al. Synthesis, crystal structures and properties of two copper(II) 2-aminomethyl benzimidazole complexes[J]. Trans Met Chem, 2003, 28(4): 464-467.
- [12] CESCON L A, DAY A R. Preparation of some benzimidazolylamino acids: Reactions of amino acids with o-phenylenediamines[J]. Org Chem, 1962, 27(2):581 - 586.
- [13] SHI Huijie, CHEN Yu, GAO Feng, et al. Synthesis, DNA-binding and DNA-photo cleavage properties of ruthenium(II) mixed-polypyridyl complex [Ru(tbz)<sub>2</sub>(dpbz)]<sup>2+</sup>[J]. J Mol Struct, 2008, 892(1/2/3):485-489.
- [14] GEARY W J. The use of conductivity measurements in organic solvents for the characterization of coordination compounds[J]. Coord Chem Rev, 1971, 7(1): 81-122.
- [15] MA Huifang, ZENG Xirui, ZHOU Xiaohua, et al. Synthesis, characterization and SOD-like activity of a ternary copper(II) complex with 1,10-phenanthroline and L-arginine[J]. J Coord Chem, 2008, 61(23):3829-3838.
- [16] LONG E C, BARTON J K. On demonstrating DNA intercalation[J]. Acc Chem Res, 1990, 23(9): 271-273.
- [17] WU Jianzhong, YE Baohui, WANG Lei, et al. Bis(2,2'-bipyridine)ruthenium(II) complexes with imidazo[4,5-f][1,10]phenanthroline or 2-phenylimidazo[4,5-f][1,10]phenanthroline[J]. J Chem Soc Dalton Trans, 1997(8):1395-1402.
- [18] JOAQUÍN B, GLORIA A, MARTA G A, et al. Efficient DNA cleavage induced by copper(II) complexes of hydrolysis derivatives of 2,4,6-tri(2-pyridyl)-1,3,5-triazine in the presence of reducing agents[J]. Eur J Inorg Chem, 2007, 2007(6):822-834.
- [19] 卢艳梅,区志镔,刘海峰,等.三元TBZ/HPB-铜(II)-L-蛋氨酸配合物的合成、表征、抑菌活性及与DNA的作用[J].无机化学学报,2011,27(4):704-710.
- [20] JIANG Qin, XIAO Nan, SHI Pengfei, et al. Design of artificial metallonucleases with oxidative mechanism [J]. Coord Chem Rev, 2007, 251 (15/16): 1951-1972.

【责任编辑 李晓卉】

<http://xuebao.scau.edu.cn>