

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<sup>-</sup>)、沙门杆菌 *Salmonella typhi* (G<sup>-</sup>)、金黄色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus* (G<sup>+</sup>) 和枯草芽孢杆菌 *Bacillus subtilis* (G<sup>+</sup>) 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)

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

**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 $\pi-\pi$ 相互作用,且具有良好的抗寄生物、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剂;大连捷迈科贸有限公司凝胶电泳池;意大利米兰 BIO-RAD Laboratories-Segrate 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pH4.8,50℃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 coil* 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  $^\circ\text{C}$  恒温条件下静置 1 h 后, 加入 3  $\mu\text{L}$  Loading buffer, 在 8  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  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 {  $\cdot\text{OH}$  抑制剂 [ 二甲基亚砷 (DMSO), 4  $\mu\text{L}$  ]、

$^1\text{O}_2$  抑制剂 [ 2,2,6,6 - 四甲基 - 4 - 哌啶酮 (TMP)、 $\text{NaN}_3$ , 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	$w(\text{C})/\%$		$w(\text{H})/\%$		$w(\text{N})/\%$		$\Lambda_m/$ ( $\text{S} \cdot \text{cm}^2 \cdot \text{mol}^{-1}$ )	电解质 类型
		测定值	计算值	测定值	计算值	测定值	计算值		
1	$\text{C}_{16}\text{H}_{26}\text{N}_6\text{O}_4\text{CuCl}_2$	38.08	38.37	5.42	5.23	16.42	16.78	125.6 (甲醇)	1:1
2	$\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{N}_5\text{Cl}_2\text{CuO}_2$	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  $\text{Cu}^{2+}$  与配体形成的配阳离子与抗衡离子  $\text{Cl}^-$  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  $\nu_{\text{N-H}}$  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  $\nu_{\text{C=C}}$ ,  $\nu_{\text{C=N}}$  和  $\gamma_{\text{C-H}}$  的峰位

变化, 说明 AMB 的  $-\text{NH}_2$  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  $\nu_{\text{N-H}}$  和  $\nu_{\text{O-H}}$  重叠在一起, 但在 1 600  $\text{cm}^{-1}$  左右的 2 个  $\nu_{\text{C=C}}$ ,  $\nu_{\text{C=N}}$  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  $\text{Cu}^{2+}$  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		
	$\nu_{\text{O-H}}, \nu_{\text{N-H}}/\text{cm}^{-1}$	$\nu_{\text{C=C}}, \nu_{\text{C=N}}/\text{cm}^{-1}$	$\gamma_{\text{C-H}}/\text{cm}^{-1}$	$\lambda/\text{nm}$		
				$\pi \rightarrow \pi^*$	$d \rightarrow d^*$	
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	277 698
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:  $[\text{Cu}(\text{AMB})_2\text{Cl}]\text{Cl} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  和  $[\text{Cu}(\text{AMB})(\text{phen})\text{Cl}]\text{Cl} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 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  $\text{CuCl}_2$  和 AMB, 说明 AMB 配位后与  $\text{Cu}(\text{II})$  产生协同作用, 提高了抑菌活

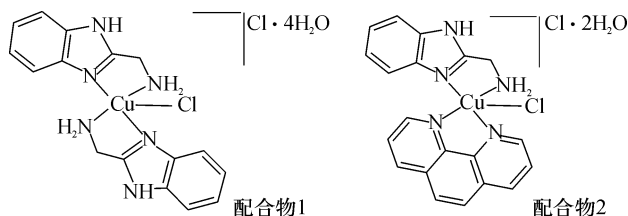


图 1 推测的配合物 1 和配合物 2 的分子配位构型  
Fig. 1 Speculated molecular structures of the complex 1 and 2

表 3 配合物的抑菌活性

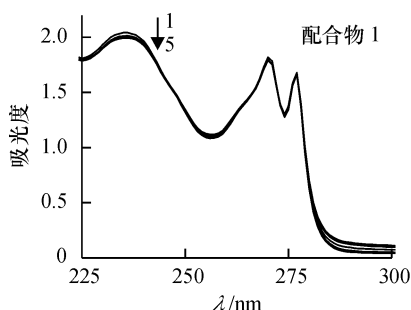
Tab. 3 The bacteriostatic activity of the complex for the assayed bacteria

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

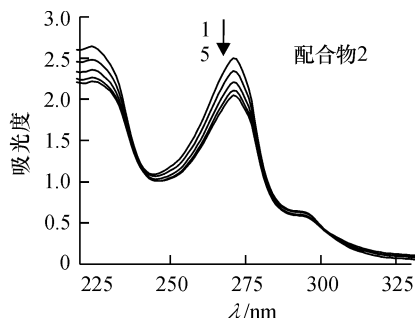
性;配合物 2 的抑菌活性虽然比配合物 1 高,但是与 phen 相近. 这可能是 phen 配体取代了配合物 1 的 AMB 后,配合物 2 的脂溶性提高且接近于 phen 的缘故. 这一推测从配合物 2 在无水乙醇中的溶解性高于甲醇可以佐证.

### 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  $\pi$  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  $c(\text{ct-DNA})$  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  $c(\text{ct-DNA})/c(\text{配合物}) = 2.1$  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  $[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{L}]^{2+}$  (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.



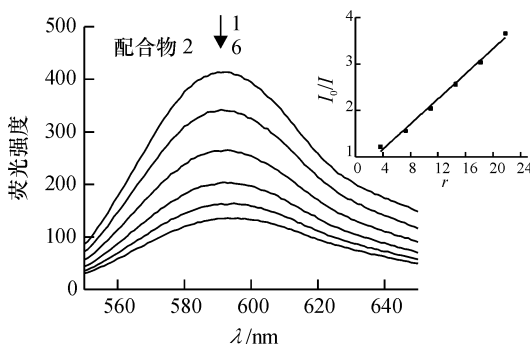
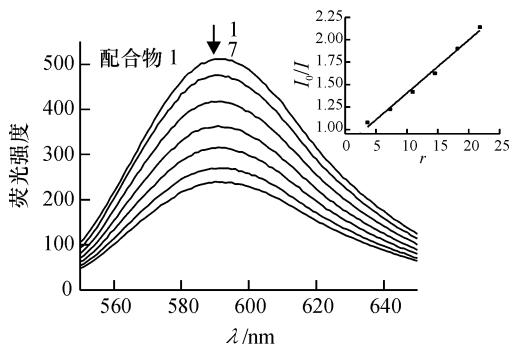
↓ 示随 DNA 浓度增加吸光度的变化趋势;  $c(\text{配合物}) = 62.5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , 1~5 的  $c(\text{ct-DNA})$  依次为 0, 33.1, 65.8, 98.0, 130.0  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ .

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  $c(\text{配合物})$  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  $I_0/I$  对  $r$  图; 1~7 的  $c(\text{配合物 1})$  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  $c(\text{配合物 2})$  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.

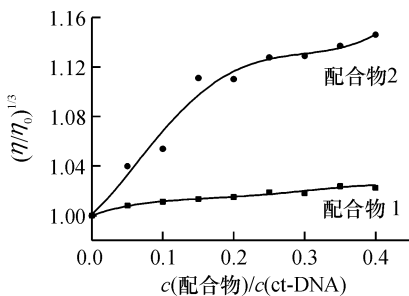
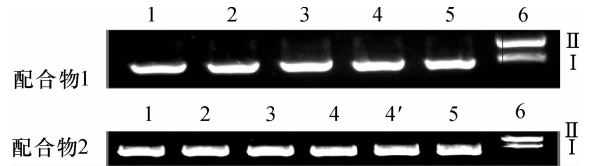


图 4 DNA 的相对比黏度随配合物加入量的变化

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.

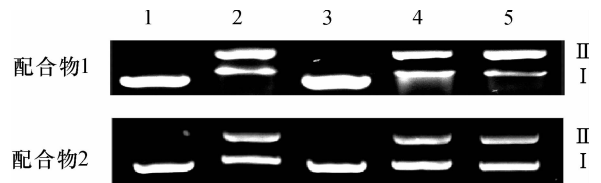


1: DNA; 2: DNA +  $V_c$ ; 3: DNA +  $V_c$  + AMB; 4: DNA +  $V_c$  +  $CuCl_2$ ; 4': DNA +  $V_c$  + phen; 5: DNA + 配合物; 6: DNA +  $V_c$  + 配合物; 其中:  $c(V_c)$  为  $1.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ; 配合物 1 中,  $c(\text{AMB})$ 、 $c(CuCl_2)$ 、 $c(\text{配合物 1})$  均为  $30 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$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

Fig. 5 Agarose gel electrophoresis for the cleavage of pBR322 DNA by the complex 1, 2 and the ligand at 37 °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  $NaN_3$  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 +  $NaN_3$ . 其中,  $c(V_c)$  为  $1.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $c(\text{TMP})$  和  $c(Na_3)$  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  $\cdot\text{OH}$  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  $NaN_3$  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,魏宇宁,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, MERCÈ 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-aminomethylbenzimidazole complexes[J]. Trans Met Chem, 2003, 28(4):464-467.

[12] CESCO 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(thz)<sub>2</sub>(dppz)]<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>