

吡啶酰胺与 DNA 作用的光谱法研究

林秋月^{1,2}, 陆晓红¹, 陈建荣^{1,2}, 李良超^{1,2}, 贺新前¹

1. 浙江师范大学化学与生命科学学院化学系, 浙江 金华 321004

2. 浙江省固体表面反应化学重点实验室, 浙江师范大学, 浙江 金华 321004

摘 要 应用紫外光谱, 荧光光谱以及表面增强拉曼光谱研究了 3 类吡啶酰胺化合物: N,N' -双(2-吡啶甲酰胺)-1,2-乙烷(H_2L^1), N,N' -双(2-吡啶甲酰胺)-1,2-苯(H_2L^2), N -苯基-吡啶-2-甲酰胺(HL^3)与 DNA 的作用方式和作用强度。紫外光谱研究得到 H_2L^1 , H_2L^2 和 HL^3 与 DNA 的结合常数 K_b 分别为 1.20×10^4 , 1.33×10^4 , 1.52×10^4 。随着化合物浓度的增大, EB-DNA 复合物体系的荧光强度逐步减弱, H_2L^1 , H_2L^2 和 HL^3 的线性 Stern-Volmer 常数 K_{SV} 分别为 0.67, 1.52, 1.73。可见 HL^3 与 DNA 的结合能力略大于其他 2 个, 表明其具有较小的空间位阻和合适的平面结构将更有利于与 DNA 的作用。随着 DNA 的加入, H_2L 的拉曼谱带强度均表现为显著的减弱且有略微的红移现象。琼脂糖凝胶电泳分析表明, 3 类吡啶酰胺都能对 pBR322DNA 进行一定程度的切割, 随着其浓度的增加, 开环构型 DNA 逐渐增多, 而超螺旋构型 DNA 逐渐减少, 但电泳图上均没有出现线带, 说明吡啶酰胺对 DNA 的切割没有选择性。

关键词 吡啶酰胺; DNA 作用; 荧光光谱; 表面增强拉曼光谱

中图分类号: O626.3 文献标识码: A 文章编号: 1000-0593(2008)06-1359-05

引 言

吡啶酰胺是一类含有酰胺基的多齿配体, 可以通过吡啶羧酸和胺类前驱体的缩合反应得到。目前, 有关吡啶酰胺的金属配合物能与核酸发生较强的相互作用^[1,2]并且具有抗肿瘤活性的研究已见少量报道^[3,4]。吡啶酰胺在不对称合成^[5]、分子受体^[6]诸方面的研究引起了人们的广泛兴趣。本文用光谱及凝胶电泳方法研究了 N,N' -双(2-吡啶甲酰胺)-1,2-乙烷(H_2L^1), N,N' -双(2-吡啶甲酰胺)-1,2-苯(H_2L^2)和 N -苯基-

吡啶-2-甲酰胺(HL^3)3 类吡啶酰胺(分子结构见图 1)与 DNA 的作用情况。其结果将对以 DNA 作为靶分子的药物结构设计等方面提供一定的实验依据。

1 实验部分

1.1 试剂和仪器

吡啶, 吡啶-2-甲酸和溴化乙锭(EB) (Fluka 公司)为分析纯; 亚磷酸三苯酯, 邻苯二胺、苯胺和乙二胺为化学纯, 苯胺和乙二胺在使用前进行减压蒸馏; 小牛胸腺

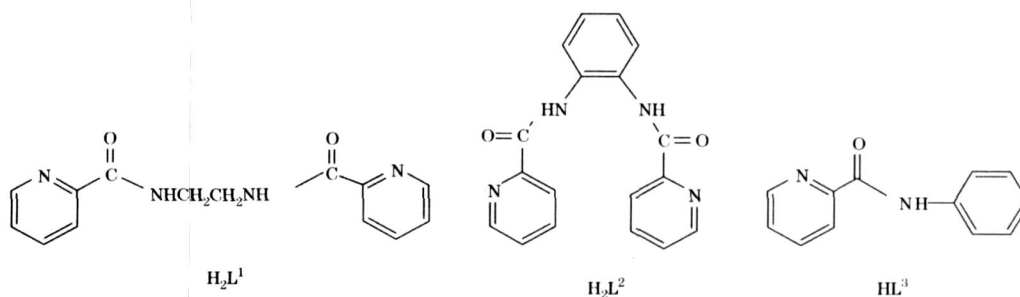


Fig 1 Structure of H_2L^1 , H_2L^2 and HL^3

收稿日期: 2006-10-29, 修订日期: 2007-02-09

基金项目: 浙江省自然科学基金项目(Y404031)和浙江师范大学无机化学重点学科项目资助

作者简介: 林秋月, 女, 1957 年生, 浙江师范大学化学与生命科学学院教授 e-mail: sky51@zjnu.cn

DNA(北京华美公司)用 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 NaCl 溶液配成 $3.72 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 溶液,置 4℃ 保存,经纯度测定 $A_{260}/A_{280} = 1.8 \sim 2.0$,在 4 天之内使用;三羟甲基氨基甲烷(Tris)(Sigma 公司),配成 $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Tris-HCl 缓冲溶液(pH 7.4);银胶按文献[7]方法制备。Vario EL 元素分析仪;Bruker-400 核磁共振仪;NEXUS-670 型红外光谱仪;UV-2501PC 紫外-可见分光光度计;Perkin Elmer LS55 荧光光度计;Renishaw 拉曼光谱仪(RM1000);DYCP-31 型电泳仪;UNIVERSAL HOOD 11-S N.76S101870 紫外成像系统(BIO-RAD)。

1.2 吡啶酰胺化化合物的合成与表征

1.2.1 H_2L^1 , H_2L^2 和 HL^3 的合成

按文献[8,9]的合成方法将 1,2-乙二胺的吡啶溶液按 1:2 摩尔比滴加到吡啶-2-甲酸的吡啶溶液中(H_2L^1)、邻苯二胺的吡啶溶液按 1:2 摩尔比滴加到吡啶-2-甲酸的吡啶溶液中(H_2L^2)、苯胺的吡啶溶液按 1:1 摩尔比滴加到吡啶-2-甲酸的吡啶溶液中(HL^3),再分别往 3 种反应液中滴加适量的亚磷酸三苯酯,加热回流数小时后形成黄色溶液,冷却至室温并重结晶,析出白色固体,真空干燥至恒重。产率为 H_2L^1 83%, H_2L^2 85%, HL^3 65%。

1.2.2 H_2L^1 , H_2L^2 和 HL^3 的组成

H_2L^1 , H_2L^2 和 HL^3 在空气中较稳定,不易被氧化。均易溶于氯仿、DMF、乙醇、甲醇等试剂,不易溶于乙醚等非极性试剂中。元素分析结果(括号中为计算值): H_2L^1 ($\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2$): C, 62.01(62.14); H, 5.08(5.18); N, 20.77(20.72); H_2L^2 ($\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_2$): C, 67.72(67.85); H, 4.31(4.40); N, 17.49(17.60); HL^3 ($\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}$): C, 72.42(72.71); H, 5.03(5.08); N, 13.76(14.13)。

1.3 H_2L^1 , H_2L^2 和 HL^3 与 DNA 作用的研究

1.3.1 紫外光谱

10 mL 比色管中加入一定量吡啶酰胺溶液,Tris 缓冲溶液(pH 为 7.4) 2.0 mL,再加入不同量的 DNA 溶液($3.7 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$),稀释至刻度,放置 2 h 后,以相应的 DNA、Tris 缓冲溶液作参比,扫描波长为 200~400 nm 的紫外光谱。

1.3.2 荧光光谱

10 mL 比色管中加入一定量的吡啶酰胺溶液($10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$),Tris 缓冲溶液(pH 为 7.4) 2.0 mL,再加入不同量的 DNA 溶液($3.7 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$),稀释至刻度,放置 2 h 后进行荧光光谱扫描。

吡啶酰胺与 EB-DNA 复合体系的荧光:10 mL 比色管中加入 2.0 mL EB 溶液($100 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$),2.0 mL DNA 溶液($3.7 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$),2.0 mL Tris 缓冲溶液(pH 为 7.4),放置 2 h。再加入不同量的吡啶酰胺溶液($10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$),稀释至刻度,以 525 nm 为激发波长,扫描复合体系在 525~700 nm 波段的荧光光谱。

1.3.3 表面增强拉曼光谱

DNA 溶液($3.7 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)和吡啶酰胺溶液($10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)分别与银胶溶液($10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)混合(体积比为 1:3),采用 Ar^+ 为激发光源,514.5 nm 为激发波长,在

3.74 mW(DNA 100 mW)的激光功率下,以 90° 散射配置收集拉曼光谱,分别获得 DNA 和吡啶酰胺的 SERS 光谱。然后将吡啶酰胺、DNA 和银胶按一定体积比混合,半小时内测试观察其 SERS 光谱变化情况。

1.3.4 H_2L^1 , H_2L^2 和 HL^3 与 pBR322DNA 的电泳试验

在 0.3 mL 的安道夫管中加入 10 μL pBR322 DNA 溶液($25 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)和不同浓度的吡啶酰胺,然后用 $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Tris-HCl/NaCl(pH 7.5)缓冲溶液稀释至 90 μL 。在 37℃ 恒温 3 h,加入 10 μL EDTA($1.0 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)和溴酚蓝终止反应,用琼脂糖凝胶进行电泳分析。

2 结果与讨论

2.1 H_2L^1 , H_2L^2 和 HL^3 与 DNA 作用的紫外光谱

H_2L^1 的紫外光谱图中出现 268 nm, 221 nm 两处吸收峰,对应于芳环的两个 $\pi-\pi^*$ 跃迁吸收带($^1L_a(^1A_{1g}) \rightarrow B_{1u}$ 跃迁)和($^1L_b(^1A_{1g}) \rightarrow B_{2u}$ 跃迁)。随着 DNA 的不断加入, H_2L^1 的吸收峰出现明显的减色效应[图 2(a)]。以 268 nm 处的吸收峰作进一步的紫外滴定研究。同样 H_2L^2 [图 2(b)] 和 HL^3 [图 2(c)] 的紫外光谱图上也出现两处吸收峰。为了较为定量地研究 H_2L^1 , H_2L^2 和 HL^3 与 DNA 的结合能力,根据公式^[10]: $[\text{DNA}]/(\epsilon_A - \epsilon_F) = [\text{DNA}]/(\epsilon_B - \epsilon_F) + 1/[K_b(\epsilon_B - \epsilon_F)]$,其中 ϵ_A 为在一定 DNA 浓度下化合物的表观摩尔吸光系数, ϵ_F 为游离的化合物的摩尔吸光系数, ϵ_B 为与 DNA 键合饱和时化合物的摩尔吸光系数,得到 $[\text{DNA}]/(\epsilon_A - \epsilon_F)$ 和 $[\text{DNA}]$ 之间成线性关系,由斜率与直线截距的比值求出 H_2L^1 , H_2L^2 和 HL^3 与 DNA 的结合常数 K_b 分别为 1.20×10^4 , 1.33×10^4 , 1.52×10^4 。

紫外光谱说明 3 个吡啶酰胺主要以插入方式与 DNA 结合^[11]。平面的芳香杂环易插入到 DNA 的碱基对平面之间,这种插入作用的结合力来自芳香环的离域 π 体系和碱基的 $\pi-\pi$ 相互作用及疏水相互作用。这是药物分子与 DNA 间发生作用的最重要的形式之一。结合常数计算结果表明 N-苯基-吡啶-2-甲酰胺与 DNA 的结合能力略大于其他两个分子,这可能是它具有合适的平面结构插入到 DNA,且分子本身体积较小,使空间位阻较小的缘故。

2.2 H_2L^1 , H_2L^2 和 HL^3 与 EB-DNA 作用的荧光光谱

经典的荧光探针 EB 本身的荧光强度很弱,但嵌入 DNA 双螺旋结构后荧光强度显著增强。如果共存于上述 EB-DNA 体系中的小分子 M 也能与 DNA 发生类似于 EB 的嵌入作用,这个小分子就会竞争 EB 与 DNA 的结合位点,使 EB-DNA 体系的荧光减弱。因而对 EB-DNA 体系荧光的减弱程度可以说明化合物与 DNA 插入作用的强弱。图 3 为不同浓度的 H_2L^1 [图 3(a)], H_2L^2 [图 3(b)] 和 HL^3 [图 3(c)] 作用下对 EB-DNA 复合体系的荧光光谱的影响。随着 H_2L^1 , H_2L^2 和 HL^3 浓度的增大,EB-DNA 复合体系的荧光逐步减弱,说明 H_2L^1 , H_2L^2 和 HL^3 与 DNA 作用后,使 EB 从 DNA 分子中游离出来,由此推测 H_2L^1 , H_2L^2 和 HL^3 均与 DNA 发生了插入作用^[12]。

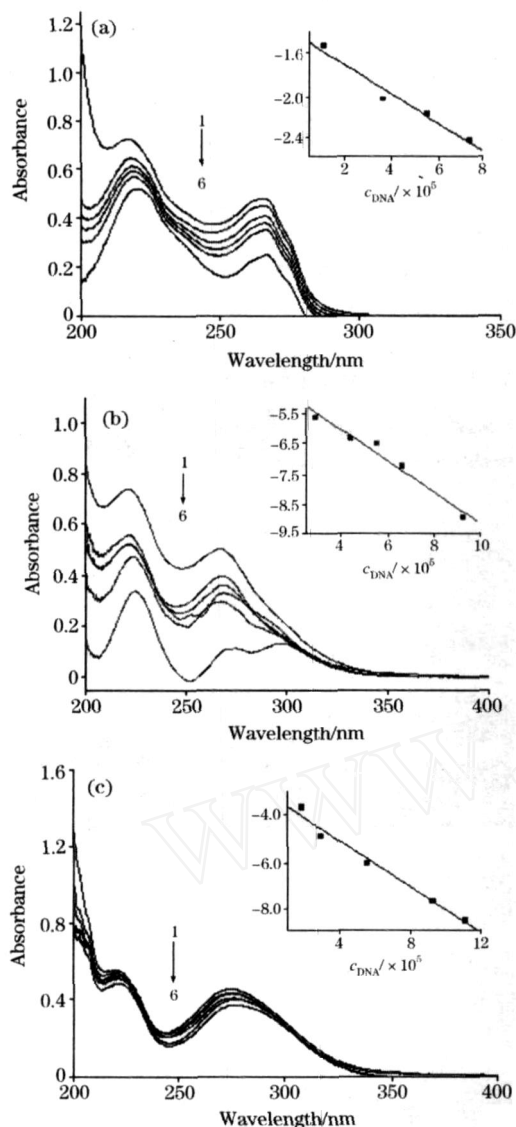


Fig 2 Absorption spectra of H_2L^1 , H_2L^2 and HL^3 in Tris - HCl/ NaCl (pH 7.4) in the presence of increasing amounts of ctDNA

- (a) $c_{H_2L^1} = 40 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$; (1) $r=0$; (2) $r=0.3$; (3) $r=0.9$; (4) $r=1.4$; (5) $r=1.9$; (6) $r=2.8$; $r = c_{\text{DNA}} / c_{H_2L^1}$
 (b) $c_{H_2L^2} = 20 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$; (1) $r=0$; (2) $r=1.5$; (3) $r=2.2$; (4) $r=2.8$; (5) $r=4.7$; (6) $r=5.6$; $r = c_{\text{DNA}} / c_{H_2L^2}$
 (c) $c_{HL^3} = 40 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$; (1) $r=0$; (2) $r=0.5$; (3) $r=0.7$; (4) $r=2.3$; (5) $r=2.8$; (6) $r=3.3$; $r = c_{\text{DNA}} / c_{HL^3}$

Inset: Plot of $c_{\text{DNA}} / (\epsilon_A - \epsilon_F)$ vs. c_{DNA}

为了较为定量地研究 H_2L^1 , H_2L^2 和 HL^3 与 DNA 的结合能力, 根据 Stern-Volmer 方程^[13]: $I_0/I = 1 + Kr$, 其中 I_0 和 I 分别为 EB-DNA 体系和不同浓度的化合物与 EB-DNA 复合体系的荧光强度, K 是线性 Stern-Volmer 常数, r 为化合物与 DNA 浓度之比。 I_0/I 与 r 成线性关系, 由直线截距求出 H_2L^1 , H_2L^2 和 HL^3 的线性 Stern-Volmer 常数 K 分别为 0.67, 1.52, 1.73。这表明 HL^3 与 DNA 的结合能力大于

H_2L^1 和 H_2L^2 , 这与紫外分析结果一致。

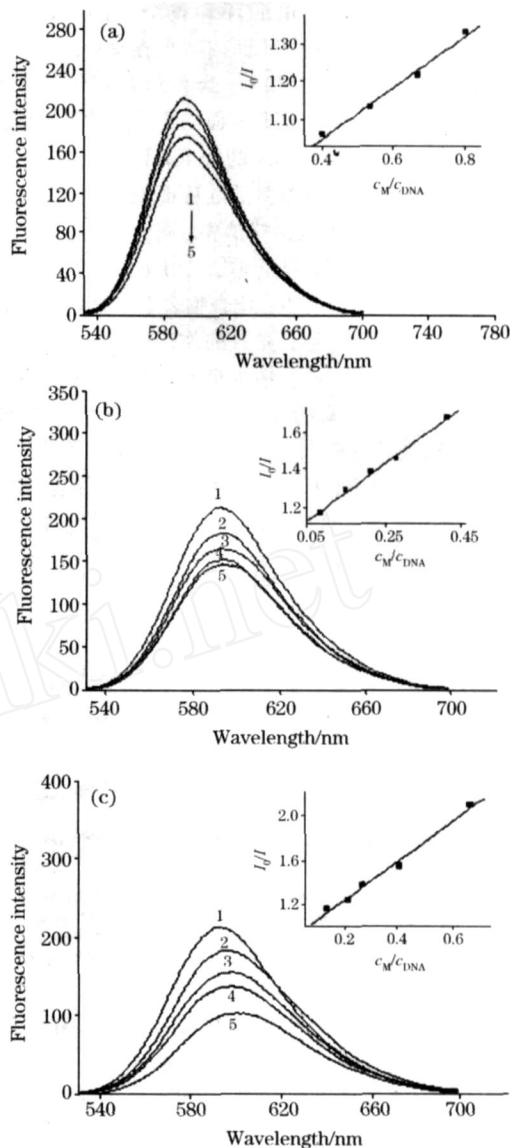


Fig 3 Fluorescence quenching curves of EB bound to DNA by the HL

- (a) H_2L^1 : (1) $r=0$; (2) $r=0.40$; (3) $r=0.54$; (4) $r=0.67$; (5) $r=0.81$; $r = c_{H_2L^1} / c_{\text{DNA}}$
 (b) H_2L^2 : (1) $r=0$; (2) $r=0.13$; (3) $r=0.27$; (4) $r=0.40$; (5) $r=0.54$; $r = c_{H_2L^2} / c_{\text{DNA}}$
 (c) HL^3 : (1) $r=0$; (2) $r=0.13$; (3) $r=0.27$; (4) $r=0.40$; (5) $r=0.67$; $r = c_{HL^3} / c_{\text{DNA}}$
 $c_{\text{EB}} = 50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$; $c_{\text{DNA}} = 74 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$

Inset: Plot of I_0/I vs. r

2.3 H_2L^1 , H_2L^2 和 HL^3 与 DNA 作用的表面增强拉曼光谱

在固体压片的条件下各化合物均有较强的荧光干扰导致无法得到化合物的拉曼光谱, 因此采用银胶作载体测其 SERS 光谱。在本文的实验条件下 DNA 水溶液在银胶体系中表现为一条较平缓的曲线, 这表明 DNA 与 Ag 胶体系的相互作用非常弱。 H_2L^1 , H_2L^2 , HL^3 和 DNA 银胶体系的

SERS 光谱见图 4。 H_2L^1 的拉曼光谱图中, 877 和 $1\ 044\text{ cm}^{-1}$ 分别为吡啶环的三角形环和整个环的环呼吸运动; $1\ 087\text{ cm}^{-1}$ 是吡啶环的 C—H 面内变形振动; $1\ 288\text{ cm}^{-1}$ 属于酰胺谱带(N—H 弯曲和 C—N 伸缩相互作用产生的特征频率); $1\ 454\text{ cm}^{-1}$ 为 $-\text{CH}_2-$ 面内变形振动和吡啶的环伸缩振动的耦合^[14]。随着 DNA 的加入, H_2L^1 的拉曼谱带强度表现为显著的减弱且有略微的红移现象(2 to 4 cm^{-1}), 而在 $1\ 044$, $1\ 087\text{ cm}^{-1}$ 处的谱峰消失。同样 H_2L^2 的拉曼光谱吸收峰也有明显的降低。 HL^3 在 $1\ 281\text{ cm}^{-1}$ 的吸收峰消失, 且有红移(2 to 5 cm^{-1}) 发生。化合物表面增强拉曼光谱峰的变化说明其和 DNA 发生了强烈的作用, 如果药物-DNA 键合物的 SERS 信号强度较药物本身的 SERS 强度减弱, 意味着药物与 DNA 双螺旋的插入相互作用将是主要键合模式^[15]。一些抗癌药物插入剂与 DNA 的相互作用模式已经证实了上述推断的正确性^[16,17]。吡啶酰胺蹬芳香环插入到 DNA 的双螺旋平面, 改变了其原有的 $\pi-\pi$ 共轭和芳香环的电子云密度, 促使谱峰强度减弱。

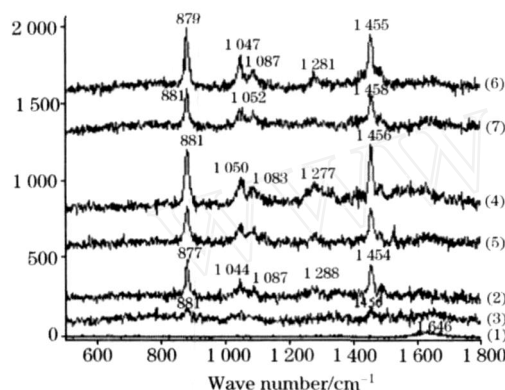


Fig 4 SERS spectra of DNA and H_2L^1 , H_2L^2 , HL^3

- (1) DNA; (2) H_2L^1 $0.4\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$;
 (3) H_2L^1 $0.4\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ + DNA $0.74\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$;
 (4) H_2L^2 $0.4\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$;
 (5) H_2L^2 $0.4\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ + DNA $0.74\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$;
 (6) HL^3 $0.4\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$;
 (7) HL^3 $0.4\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ + DNA $0.74\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$

2.4 H_2L^1 , H_2L^2 和 HL^3 与 pBR322 DNA 的电泳试验

pBR322DNA 通常呈现超螺旋型(Form II), 当其中一条链上出现切口(即单链断裂)时就变为切口环型(Form I), 当两条链在同一位置都发生断裂时就变为线型(Form III)。以上三种形式有完全不同的迁移率, 通常 III 型最靠前, II 型次之, I 型最后, 借此可应用该技术研究药物对 DNA 的断裂作用^[18]。图 5 为不同浓度的 H_2L^1 (a), H_2L^2 (b), HL^3 (c) 和 pBR322 DNA 作用的凝胶电泳图。从图中可以看到, 随着

H_2L^1 , H_2L^2 和 HL^3 浓度的增加, 开环构型 DNA 逐渐增多, 超螺旋构型逐渐减少, 这表明 3 个吡啶酰胺均能对 pBR322 DNA 进行一定程度的切割。

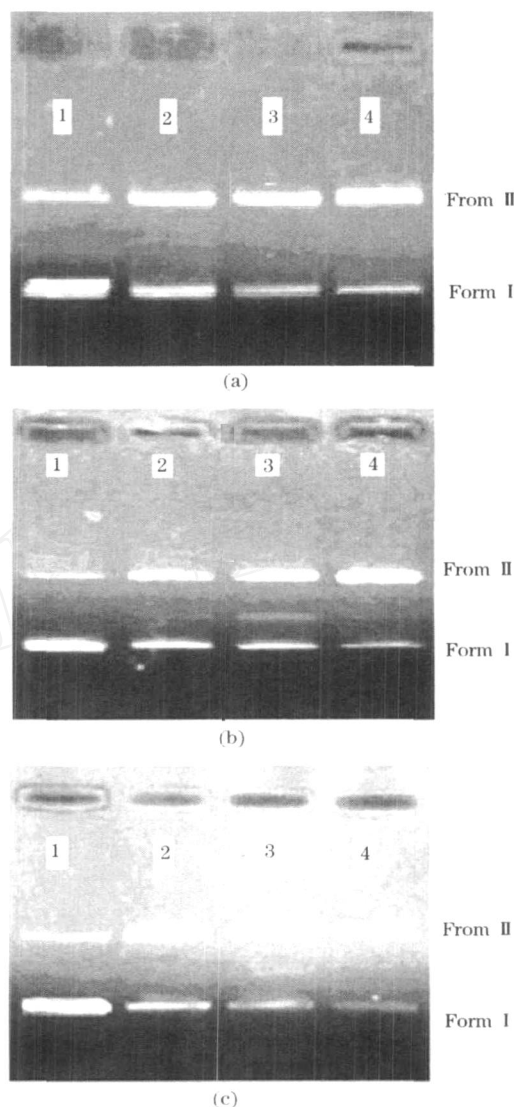


Fig 5 Cleavage of pBR322 DNA by H_2L^1 , H_2L^2 and HL^3

- (a) Lane 1, DNA control; lane 2, DNA + H_2L^1 ($40\text{ }\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$); lane 3, DNA + H_2L^1 ($60\text{ }\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$); lane 4, DNA + H_2L^1 ($80\text{ }\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)
 (b) Lane 1, DNA control; lane 2, DNA + H_2L^2 ($40\text{ }\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$); lane 3, DNA + H_2L^2 ($60\text{ }\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$); lane 4, DNA + H_2L^2 ($80\text{ }\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)
 (c) Lane 1, DNA control; lane 2, DNA + HL^3 ($40\text{ }\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$); lane 3, DNA + HL^3 ($60\text{ }\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$); lane 4, DNA + HL^3 ($80\text{ }\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$). DNA ($0.25\text{ }\mu\text{g}$) was incubated with H_2L^1 , H_2L^2 and HL^3 for 3 h in Tris buffer (pH 7.5)

参 考 文 献

- [1] Kurosaki H, Sharma R K, Aoki S, et al. J. Chem. Soc. Dalton Trans, 2001, (4): 441.
- [2] LU Xiao-hong, LIN Qiu-yue, HU Rui-ding, et al (陆晓红, 林秋月, 胡瑞定, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis (光谱学与光谱分析), 2007, 27(6): 1176.
- [3] ZHANG Jun-yong, LIN Qin, DUAN Chun-ying, et al. J. Chem. Soc. Dalton Trans., 2002, (4): 591.
- [4] Leung W H, Ma J X, Yam V W W, et al. J. Chem. Soc. Dalton Trans., 1991, (4): 1071.
- [5] Trost B M, Hachiya I. J. Am. Chem. Soc., 1998, 120(5): 1104.
- [6] Huc Ivan, Krische Michael J, Funeriu Daniel P, et al. J. Inorg. Chem, 1999, (38): 1415.
- [7] KE Wei-zhong, YU Duo-wei, CHEN Wan-rong, et al (柯惟中, 余多慰, 陈婉蓉, 等). Journal of Nanjing Normal University (Natural Science) (南京师大学报·自然科学版), 1995, 18(3): 55.
- [8] QI Jian-ying, MA Hong-xia, YANG Qi-yun, et al (戚建英, 马红霞, 杨启云, 等). Journal of Sichuan University (Natural Science) (四川大学学报·自然科学版), 2000, 37(3): 414.
- [9] Ray Manabendra, Mukherjee Rabindranath, Richardson Jhon F, et al. J. Chem. Soc. Dalton Trans., 1994, (7): 965.
- [10] LIU Jie, ZHANG Ti-xiang, LU Tong-bu, et al. J. Inorg. Biochem., 2002, 91: 269.
- [11] Barton Jacqueline K, Danishefsky Avis, Goldberg Jonathan. J. Am. Chem. Soc., 1984, 106: 2172.
- [12] WANG Ping-hong, ZHANG Qi, WANG Liu-fang, et al (王平红, 张 岐, 王流芳, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis (光谱学与光谱分析), 2006, 26(5): 941.
- [13] Lakowicz Joseph R, Weber Gregorio. Biochem., 1973, 12: 4161.
- [14] PAN Jia-lai (潘家来). Application of Raman Spectra in Organic Chemistry (激光拉曼光谱在有机化学中的应用). Beijing: Chemical Industry Press (北京: 化学工业出版社), 1986. 68.
- [15] WANG Shu-ling, YU Jun-sheng (王树玲, 于俊生). Chemical Journal of Chinese Universities (高等化学学报), 2002, 23(9): 1676.
- [16] Igor Nabiev, Alexandre Baranov, Igor Chourpa, et al. J. Phys. Chem., 1995, 99(5): 1608.
- [17] HU Rui-ding, LIN Qiu-yue, HUANG Wei, et al (胡瑞定, 林秋月, 黄 炜, 等). Journal of the Chinese Rare Earths Society (中国稀土学报), 2005, 23(3): 372.
- [18] WANG Ping-hong, ZHANG Qi, YUAN Wen-bing, et al (王平红, 张 岐, 袁文兵, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis (光谱学与光谱分析), 2006, 26(7): 1298.

Synthesis and DNA-Binding Properties of Three Compounds Containing Pyridinecarboxamide

LIN Qiu-yue^{1,2}, LU Xiao-hong¹, CHEN Jian-rong^{1,2}, LI Liang-chao^{1,2}, HE Xin-qian¹

1. College of Chemical and Life Science, Zhejiang Normal University, Jinhua 321004, China

2. Zhejiang Key Laboratory for Reactive Chemistry on Solid Surfaces, Zhejiang Normal University, Jinhua 321004, China

Abstract N,N'-bis(2-pyridinecarboxamide)-1,2-ethane (H_2L^1), N,N'-bis(2-pyridinecarboxamide)-1,2-benzene (H_2L^2) and N-phenylpyridine-2-carboxamide (HL^3) were synthesized, and characterized by elemental analysis, IR and HNMR spectra. UV-visible (UV-Vis) spectra, fluorescence spectra and SERS spectra to study the interaction of the three ligands with calf thymus DNA. UV-visible (UV-Vis) spectra show that with the incremental addition of DNA, the bands of H_2L^1 , H_2L^2 and HL^3 all show Hypochromism. Meanwhile fluorescence spectra show that the addition of the three ligands to DNA pretreated with EB causes an appreciable reduction in fluorescence intensity, indicating that the ligands compete with ethidium bromide in binding to DNA, and free ethidium bromide increases. The addition of DNA causes the SERS signals of the ligands to weakened and some bands to disappeared. Based on the above experimental results, we conclude that the three ligands bind to DNA mainly through the intercalation mode. The binding constant of the three compounds K_b was calculated, 1.20×10^4 for H_2L^1 , 1.33×10^4 for H_2L^2 and is 1.52×10^4 for HL^3 . K_r was also calculated to be 0.67, 1.52 and 1.73 for H_2L^1 , H_2L^2 and HL^3 , respectively. The value indicates that the binding of HL^3 to DNA is stronger than that of H_2L^1 and H_2L^2 , as HL^3 has proper planar structure, smaller molecular volume and less steric hindrance. The three ligands can all induce the cleavage of plasmid pBR322 DNA. An increase in H_2L^1 , H_2L^2 and HL^3 concentrations causes more transformation of plasmid DNA from closed circular conformations to nicked conformations. But linear conformations have not been observed. The cleavage of plasmid pBR322 DNA caused by the three ligands is not selective.

Keywords Pyridinecarboxamide; DNA-binding; Fluorescence spectrum; SERS

(Received Oct. 29, 2006; accepted Feb. 9, 2007)