

氯唑西林钠与镧离子、DNA 之间的作用研究

黄淑萍 郭志鹏 钞建宾^①

(山西大学现代化学研究所 太原市坞城路 36 号 030006)

摘 要 共沉淀法制得氯唑西林钠与镧离子的固体配合物,并对其进行了红外,荧光,核磁共振等研究,确定了该配合物的配位点并探讨了配位机理。同时进一步研究了该配合物与 DNA 形成三元配合物的荧光特性。研究结果发现:配合物的荧光发射峰强度随着 DNA 的加入而逐渐减小,而后随着 DNA 浓度的继续增大,发射峰又增高,说明此配合物与 DNA 可能是先嵌入结合,而后伴随有静电结合,配合物在 DNA 分子表面进行长距离自组装。研究证明所合成的配合物能够与 DNA 作用,可作为 DNA 的荧光探针。

关键词 氯唑西林钠,脱氧核糖核酸,配合物,荧光光谱。

中图分类号:O657.33

文献标识码:A

文章编号:1004-8138(2006)01-0027-04

1 前言

稀土药物配合物选择性分子探针制备和应用是目前生命科学和临床诊断应用中很活跃的研究领域^[1]。近几年来,国内外陆续报道了稀土化合物可治疗糖尿病,血栓,癌症等疾病,因此这类探针的开发对人类认识癌症及诊断早期癌变非常重要。

氯唑西林钠是一种半合成的异噁唑类抗生素,它对能产生 β -内酰胺酶的革兰阳性菌感染是一种酶抑制剂。从而可用于保护氨苄西林不被 β -内酰胺破坏。临床上治疗败血症,呼吸道感染,脑膜炎,软组织感染等。

脱氧核糖核酸(DNA)是所有生物的基本遗传物质,许多分子能与 DNA 分子发生相互作用,进而影响 DNA 的复制^[2,3]。抗菌药物与核酸反映的机理对于了解核酸生物反应历程,临床医学研究及核酸的分析测定均有重要意义。

近年研究表明,抗菌药物与细菌 DNA 分子间的结合可能受到介质离子强度等因素的影响。人们对金属在药物与 DNA 结合中所起的作用虽有研究^[4,5],但多是从药理学的角度进行的,由于荧光光谱法具有高灵敏度和较好的选择性,被广泛地用于生物样品,环境物质的分析,因此本文采用荧光光谱法研究了三元混配物的性质。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

仪器:珀金-埃默尔 LS-50B 型荧光分光仪(英国 PE 公司),1cm 石英杯,选择激发波长为 220nm,扫描范围 250—600nm,入射与出射狭缝均为 10nm。

^① 联系人,电话:(0351)7010722

作者简介:黄淑萍(1957—),女,山西省山阴县人,教授,主要从事仪器分析的研究。

收稿日期:2005-08-26;接受日期:2005-09-19

日本日立 IR-408 红外光谱仪, KBr 压片法, 分辨率 2cm, 扫描次数 2 次。

瑞士 Bruker DRX300 超导核磁共振谱仪, 以重水 D_2O 为溶剂, HNMR 谱宽 15ppm, 窗函数 NO, D1, 5s; CNMR 谱宽 300ppm, EM, D1, 10s。

试剂: 氯唑西林钠(山西博康药业有限公司); $LaCl_3$;

缓冲溶液的配制: 取 $NaAc \cdot 3H_2O$ 固体 100g 于烧杯中, 加入 6mol/L 的冰醋酸溶液 (HAc) 13mL, 充分搅拌, 移至 500mL 的容量瓶中, 用去离子水定容, pH=5.6。

所用试剂均为分析纯, 实验用水为去离子水。

小牛胸腺 DNA(华美生物工程公司北京分工司) 纯度 A_{260}/A_{280} 为 1.8—2.0, 取适量 DNA 溶液于 0.1mol/L NaCl 溶液中, 用时稀释至的浓度为 0.02mol/L, 计算 DNA 的浓度。

2.2 实验方法

(1) 准确称取 0.0223g 氯唑西林钠于烧杯中, 加水溶解, 搅拌, 然后移至 50mL 容量瓶中加水定容, 配成 1×10^{-3} mol/L 溶液。

(2) 准确称取 0.0245g $LaCl_3$ 于烧杯中, 加水溶解, 搅拌, 然后移至 100mL 容量瓶中加水定容, 配成 1×10^{-3} mol/L 溶液。

(3) 固体配合物的合成

称取适量的氯唑西林钠于烧杯中, 加适量的水搅拌使其溶解, 然后加相应的 $LaCl_3$ 水溶液, 可以看到即刻生成白色的絮状物。然后用搅拌器搅拌, 放置至沉淀生成, 抽滤, 反复用水洗, 干燥滤饼, 得到白色粉末状固体, 保存在培养皿中待用。

2.3 红外光谱的测定

利用 KBr 压片法取约 1—2mg 固体试样, 加入约 100 倍的 KBr 粉末, 在玛瑙研钵中研磨, 充分研细混匀后(粒度小于 $2\mu m$), 装入专用的压片模具中压片, 当压片机的指示压力在 7.5—8.0 吨时停止压片, 2min 后将压好的半透明的薄片小心移到夹片中, 上机扫描测绘图谱, 如图 1 和 2:

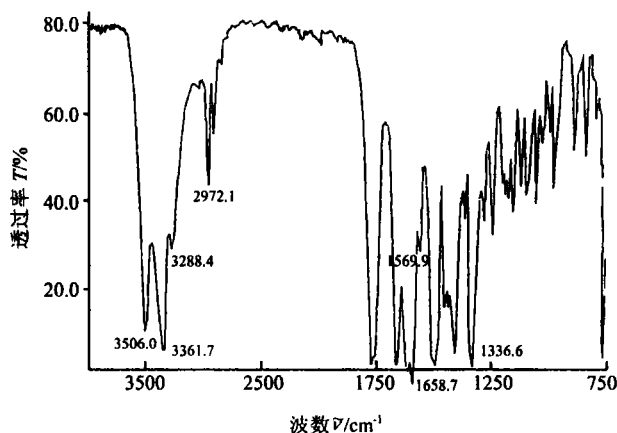


图 1 氯唑西林钠的 IR 光谱

比较图 2 和 3, 可见配合物的红外谱图发生了几处明显的变化, 配体中与波数为 3516.0cm^{-1} 和 3361.7cm^{-1} 两尖峰有关的仲酰胺中的 N—H 伸缩振动在配合物中合并为一宽峰, 而羧酸根离子的 $\nu_{C=O}$ 等峰也发生了较明显的偏移且强度明显减弱。

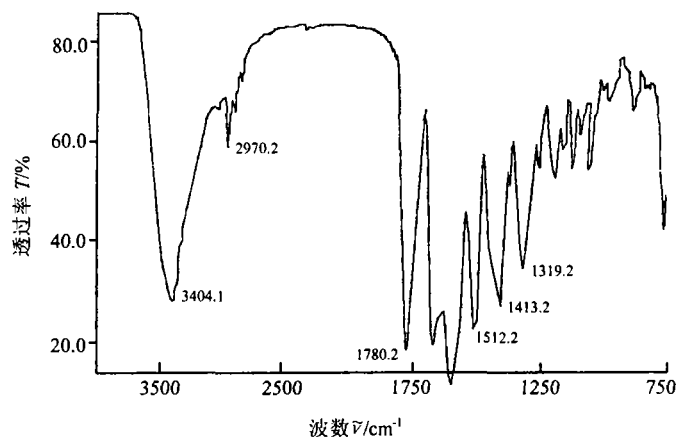


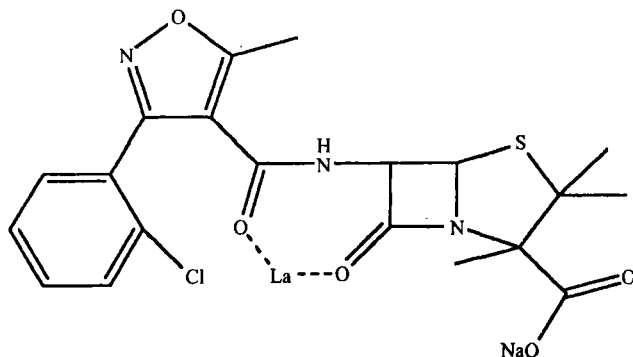
图 2 配合物的 IR 光谱

3 结果与讨论

3.1 La^{3+} 与氯唑西林钠的配位点

通过红外、核磁共振图,我们发现确实形成了新的配合物。其配位位置是:

La^{3+} 与氯唑西林钠仲酰胺($-\text{CONH}-$)中羧基上的氧及叔酰胺($-\text{CON}-$)中羧基上的氧配位的,从而形成一个稳定的螯合环结构,因为这两个羧基上的氧都有孤对电子,而 La^{3+} 离子又有容易形成配合物的空轨道,故存在形成配合物的有利条件。



3.2 配合物与 DNA 的作用研究

在 10mL 比色管中依次加入一定体积的 $\text{pH}=5.6$ HAc-NaAc 的缓冲液,氯唑西林钠溶液的 LaCl_3 溶液和一定量的 DNA 溶液,加水稀释至 5mL,混匀后分别测定其相应的荧光光谱。荧光激发波长选择为 205nm,发射波长为 380nm,狭缝宽均为 10nm,室温下测定。

表 1 氯唑西林钠与 La^{3+} 配合物与 DNA 荧光光谱

序号	DNA 加入量 (mL)	最高峰波长 (nm)	峰强度
1	0	354.0	231.0
2	0.1	347.5	192.8
3	0.2	350.5	182.0
4	0.3	353.5	171.1
5	0.4	358.5	198.2

由荧光光谱法可知,镧离子配合物与 DNA 作用发生了明显的变化:随着 DNA 浓度的增大,荧光峰的强度先减小后增大。Kumar 等人认为小分子与双螺旋 DNA 的作用一般有嵌入结合,沟槽结合和静电结合 3 种模式^[4]。当有机分子与核酸的摩尔比较高且介质的离子强度较低时,将诱导核酸超螺旋结构的形成,这种超螺旋结构是由于有机分子在核酸分子表面进行长距离组装。因而有机分

子与核酸作用导致强烈的共振光谱,意味着有机分子在核酸表面进行堆积,形成一种超螺旋结构。其原因是氯唑西林钠与 La^{3+} 配合物与 DNA 发生了嵌入的作用,而当 DNA 的浓度继续增大,荧光强度开始增大,说明随着 DNA 浓度的升高,除了有嵌入的作用还伴随着静电作用,高浓度的 DNA 存在下,静电逐渐增强, La^{3+} 配合物在 DNA 表面分子发生距离自组装,可以推断 La^{3+} 配合物与 DNA 作用可能经历了由嵌入到聚集的变化。杨频等人认为可能是由于 DNA 分子对配合物的吸附作用,而引起配合物分子中荧光生色团周围环境极性的改变,导致荧光增强^[3]。 La^{3+} 与氯唑西林钠的配合物可作为荧光探针,并有待深入的研究。

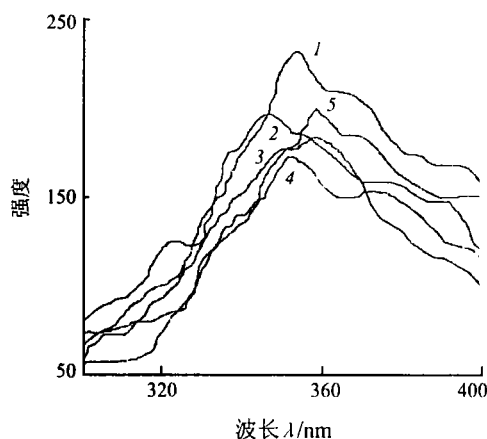


图 3 La^{3+} 络合物与 DNA 的荧光光谱

1—5 分别为 DNA 加入量(mL): 0; 0.1; 0.2; 0.3; 0.4.

参考文献

- [1] Shen L L, Mitscher L A, Sharma P N *et al.* Mechanism of Inhibition of DNA Gyrase by Quinolone Antibacterials: A Cooperative Drug-DNA Binding Model[J]. *Biochem*, 1989, **28**: 3886—3894.
- [2] 徐岩, 沈含熙, 黄汉国. 铁(Ⅲ)-氟哌酸-鸟苷酸三元络合物的荧光特性[J]. *分析化学*, 1997, **25**(4): 419—422.
- [3] 陈亮, 钞建宾, 续浩. 西沙必利与稀土离子 Eu^{3+} 配合物的合成及配位研究[J]. *波谱学杂志*, 2001, **18**(3): 249—256.
- [4] Kumar C V, Asuncion E H. DNA Binding Studies and Site Selective Fluorescence Sensitization of an Anthryl Probes[J]. *J Am Chem Soc.*, 1993, **115**: 8547—8553.
- [5] 方光荣, 李玲, 蔡超霞. 铜与邻菲咯啉和联吡啶的混配物的合成及其与 DNA 作用研究[J]. *光谱学与光谱分析*, 2004, **24**(3): 327—329.

Study on the Interaction Among Cloxacillin Sodium (C. S.), La^{3+} and Calf Thymus DNA

HUANG Shu-Ping GUO Zhi-Peng CHAO Jian-Bing

(Institute of Modern Chemistry, Shanxi University, Taiyuan 030006, P. R. China)

Abstract A solid complex of cloxacillin sodium (C. S.) with La^{3+} was prepared by coprecipitation and characterized by fluorescent, IR and thermal spectrometry. The complex site and complex mechanism were studied by ^1H NMR and ^{13}C NMR. The formation of ternary complexes of CS- La (Ⅲ)-C. T. DNA was studied by fluorescence spectrometry, which shows the interaction between C. S.- La^{3+} and intercalation of long-range self-assembly. The synthesized complex can be used as a DNA probe.

Key words Cloxacillin Sodium, DNA, Complex, Fluorescence Spectra.