

# 含硫氨基葡萄糖金属配合物的合成及与DNA和蛋白作用研究

吴姗姗<sup>1</sup>, 张寅峰<sup>2</sup>, 杜金凤<sup>1</sup>, 张岐<sup>1\*</sup>, 袁文兵<sup>1</sup>, 顾海波<sup>1</sup>

1. 海南大学海南省精细化工重点实验室, 海南 海口 570228

2. 中国科学技术大学生命科学院, 安徽 合肥 230027

**摘要** 合成了四种含硫氨基葡萄糖金属配合物(M-GLUS, M = Co, Cu, Ni 和 Zn), 利用元素分析, 摩尔电导, 核磁共振氢谱进行了结构表征。结果表明含硫配体与这四种二价金属离子均形成了2:1型非电解质配合物。在pH 7.08 Tris缓冲液中, 采用紫外吸收光谱和荧光光谱研究了金属配合物与小牛胸腺DNA的作用机制, 发现随着金属配合物量的逐渐增加, DNA电子吸收光谱的最大吸收峰呈增色效应, 对配合物DNA-EB体系也能产生荧光猝灭作用, 说明四种金属配合物均可与DNA发生相互作用, 结合方式为部分插入; 在近似生理酸度条件下, 利用荧光光谱对金属配合物与HSA/BSA的结合特性进行了初步分析, 发现配合物均能猝灭HSA/BSA的荧光强度, 利用Scatchard方程计算了四种金属配合物与HSA/BSA的结合常数和结合位点数, 表明金属配合物与血清白蛋白有较强的结合且只有1类键合位, 其中Co-GLUS与蛋白的结合力最强。

**关键词** D(+)-氨基葡萄糖; 金属配合物; 溴化乙锭; 小牛胸腺DNA; 血清白蛋白

**中图分类号**: O665 **文献标识码**: A **文章编号**: 1000-0593(2008)02-0374-06

## 引言

D(+)-氨基葡萄糖(D(+)-glucosamine, 简称GLU)是甲壳素天然多糖经脱乙酰化后壳聚糖的最终水解产物, 糖类化合物及其衍生物无论在生物医学和功能保健品领域都有着极为重要的作用<sup>[1,2]</sup>。核酸是生命过程中的重要物质, 它包含了遗传信息, 并参与这些信息在细胞内的表达, 从而促成代谢过程并控制这一过程。因此, 研究小分子物质对DNA结构和功能的影响, 将有助于从分子水平上了解生命现象的本质。同时, 能够从基因的水平上解释某些疾病的发病机理, 并通过分子设计来寻找有效的治疗药物。金属配合物可作为DNA结构和构象的探针, 研究金属配合物与DNA的键合与识别机理成为近10年来国际上比较活跃的研究领域之一<sup>[3,4]</sup>。血清白蛋白(serum albumin, SA)是血浆中含量最丰富的载体蛋白, 也是目前研究最为广泛的一种蛋白质, 它能与许多内源及外源性化合物结合, 起到储存和转运作用。对血清白蛋白与药物分子相互作用的研究机制, 对全面阐述小分子化合物与蛋白质的结合规律和机理有重要意义<sup>[5,6]</sup>。

两分子二硫代氨基甲酸盐与二价过渡金属形成的配合物在配位结构上通常为平面四方形<sup>[7]</sup>, 作为生物探针分子有着

特殊的性质, 同时考虑糖类化合物的生物生理特性, 合成了四种新型含硫氨基葡萄糖金属配合物并进行了结构表征, 进而探索了配体、配合物与DNA的作用机制, 并在近似生理酸度下与人血白蛋白(HSA)、牛血白蛋白(BSA)的结合特性。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

AV400核磁共振仪(瑞士Bruker); Vario EL元素分析仪(德国Elementar), UV2450紫外-可见分光光度计(日本岛津), RF-540荧光分光光度计(日本岛津), 320-S pH计(上海梅特勒-托利多仪器有限公司), DDS-307精密型电导率仪(贵阳学通仪器仪表有限公司)。

氨基葡萄糖盐酸盐(Calbiochem-Novabiochem Co.), 三(羟甲基)氨基甲烷(Tris)(生化试剂)和小牛胸腺DNA( $C_{DNA} = 7.75 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )均购自上海华美生物工程公司, 溴化乙锭( $C_{EB} = 1.0 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , 上海国药集团化学试剂有限公司), 人血清白蛋白(中国生物技术集团公司), 牛血清白蛋白(Bio Basic Inc)。其他试剂均为分析纯, 用前未作进一步处理。实验用水为二次蒸馏水。

收稿日期: 2007-02-28, 修订日期: 2007-05-29

基金项目: 国家自然科学基金项目(20762003)和国家“863”引导项目(2005AA001240)资助

作者简介: 吴姗姗, 女, 1982年生, 海南大学应用化学专业硕士研究生 \*通讯联系人 e-mail: hnfninechem@163.com

### 1.2 含硫氨基葡萄糖金属配合物的制备及表征

在  $N_2$  的氛围中, 500 mg 氨基葡萄糖盐酸盐溶于 35 mL 甲醇, 加入适量 KOH 的甲醇溶液, 搅拌 20 min, 室温下 (25  $^{\circ}C$ ) 加入  $CS_2$  176 mg, 搅拌 1 h, 得到淡黄色配体 GLUS ( $C_7H_{12}NS_2K$ , 针状晶体, 重结晶分离纯化, 熔点 135 ~ 137  $^{\circ}C$ )。 $H^1$  NMR: ( $D_2O$ , 400 MHz) : 2.0 (s, 5H,  $-OH$ ,  $-NH$ ), 2.89 (t, 2H,  $-CH-N$ ), 3.40 ~ 3.76 (m, 3H,  $-CH-O$ ), 3.79 (t, 2H,  $-CH_2-$ ), 5.56 (m, 1H,

$O-CH-O$ )。制得的配体分别加入金属醋酸盐 ( $M = Cu^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ), 室温搅拌反应 3 h。过滤浓缩, 加入丙酮析出沉淀至完全, 用无水甲醇洗涤三次, 真空干燥后得到产物, 产率达 60% ~ 70%。

元素分析结果和摩尔电导数据列于表 1。通过分析电导值并和文献[8]对比表明, 配体在 DMSO 溶液中为 1:1 电解质, 配合物为非电解质。

Table 1 Elemental analysis and molar conductance data of the complexes

Formula	Color	Melting point/ $^{\circ}C$	Elemental analysis(calcd.)/%			$m/(s \cdot cm^2 \cdot mol^{-1})$
			C	H	N	
$C_7H_{12}NS_2K$	Yellow	135 ~ 137	33.45(33.02)	4.34(4.71)	5.60(5.50)	64.3
$C_{14}H_{24}N_2O_{10}S_4Co$	Brown	227 ~ 229	30.60(31.21)	4.40(4.42)	5.09(5.11)	16.39
$C_{14}H_{24}N_2O_{10}S_4Cu$	Brown	230 ~ 231	34.24(34.89)	4.25(4.23)	4.85(4.90)	4.95
$C_{14}H_{24}N_2O_{10}S_4Ni$	Green	225 ~ 227	29.59(29.05)	4.30(4.26)	4.83(4.94)	5.16
$C_{14}H_{24}N_2O_{10}S_4Zn$	White	234 ~ 236	33.41(34.16)	4.01(4.21)	4.67(4.88)	5.49

### 1.3 配合物对 DNA 紫外光谱光谱测定

在 10 mL 比色管中加入一定量的  $Tris-HCl$  缓冲液、DNA 储备液、氨基葡萄糖金属配合物溶液, 用二次蒸馏水稀释至刻度, 以不含 DNA 的  $Tris-HCl$  缓冲液为试剂空白, 用 1 cm 石英比色皿于 300 ~ 230 nm 波长范围内测定 DNA 与氨基葡萄糖金属配合物相互作用的紫外吸收光谱。

### 1.4 配合物对 DNA-EB 荧光光谱的影响

荧光染料溴化乙锭 (EB) 是核酸与其键合常用探针, 本身的荧光很弱, 但能平行地插入 DNA 内部地碱基对之间, 导致 EB (DNA-EB) 荧光显著增强<sup>[9-11]</sup>。

用缓冲溶液配置 DNA-EB ( $c_{DNA} = 9.45 \times 10^{-4} mol \cdot L^{-1}$ ,  $c_{EB} = 4.24 \times 10^{-5} mol \cdot L^{-1}$ ) 溶液, 分别向其中加入不同体积的氨基葡萄糖金属配合物, 反应 30 min 后测定其荧光发射光谱 (狭缝  $Ex = Em = 5 nm$ )。

### 1.5 配合物对 DNA-EB 荧光猝灭方式的判断

在 DNA-EB ( $c_{DNA} = 9.45 \times 10^{-4} mol \cdot L^{-1}$ ,  $c_{EB} = 4.24 \times 10^{-5} mol \cdot L^{-1}$ ) 的  $Tris-HCl$  缓冲液中, 分别加入一系列不同摩尔比 ( $R = c_{配合物}/c_{DNA}$ ) 的配合物溶液, 反应 30 min 后测定其荧光强度。以荧光强度  $F_0/F$  (不存在金属配合物/存在金属配合物) 对氨基葡萄糖金属配合物的浓度作图。

### 1.6 配合物与人(牛)血清白蛋白的相互作用研究

荧光滴定实验: 移取 0.3 mL  $1.0 mol \cdot L^{-1}$  的 NaCl 溶液和一定体积蛋白储备液 ( $3.0 \times 10^{-5} mol \cdot L^{-1}$ )、 $Tris-HCl$  缓冲溶液 (pH 7.08) 于 1 cm 石英池 (三者体积总和为 3.0 mL), 以微量注射器逐次加入不同体积的金属配合物储备液 (累计体积 < 100  $\mu L$ ), 反应时间为 30 min。对不同的金属配合物-蛋白质体系选择不同的激发波长/发射波长 ( $\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ ), 测定荧光强度, 所得数据用于结合常数等的计算。

## 2 结果与讨论

### 2.1 紫外-分光光度计法研究氨基葡萄糖金属配合物与 DNA 的相互作用

DNA 是由五种 5'-脱氧核苷酸通过磷酸二酯键聚合成的多核苷酸长链, 碱基处于螺旋的内部。在生理条件下, 主链外侧磷酸根带负电荷是亲水性, 而碱基则是疏水的。碱基的堆积力、氢键以及磷酸根与钠、钾等阳离子的静电作用共同维持了 DNA 双螺旋结构的稳定性。DNA 分子在波长 260 nm 处有典型的吸收峰, 这是由于核酸中嘌呤和嘧啶碱基的共轭双键产生的。如果 DNA 的双螺旋结构被破坏, DNA 分子在 260 nm 的紫外吸收就会增强, 这个现象被称为“增色效应”。

由谱图 1 可知, 随加入配合物浓度的增加, 对应 260 nm 左右的吸光度值呈现增加的趋势, 并且 DNA 最大吸收峰发生蓝移。这是因为当配合物加入 DNA 中, 配合物可能嵌入到 DNA 双螺旋腺嘌呤碱基对之间, 引起构成碱基堆积力的疏水作用和范德华力的相应改变, 影响了 DNA 构象与结构的稳定, 可以认为是配合物与 DNA 的碱基作用而破坏 DNA 的双螺旋结构, 从而产生增色效应。根据文献[12, 13], 单独  $Co^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$  离子在同样浓度比例下仅表现为减色效应, 单独配体对 DNA 的吸收无影响。从测得的摩尔电导率中也可以看出, 金属配合物为非电解质, 说明四种金属配合物均作为一个整体插入了 DNA 的螺旋结构中, 对其产生破坏作用。

### 2.2 配合物对 DNA-EB 体系荧光强度的影响

为了明确配合物与 DNA 的结合模式, 我们对金属配合物与 EB 进行了竞争结合性实验。图 2 记录的是配合物对 DNA-EB 复合体系荧光发射光谱的影响。从图中可以看出, 在不同量的金属配合物存在下, 荧光强度却随着  $R$  ( $R = c_{配合物}/c_{DNA}$ ) 的增大而减小, 而 DNA-EB 体系的最大荧光发射波长基本没有发生移动, 说明随着金属配合物的加入, 取代了 DNA-EB 体系中相当数量的 EB 分子, 使 EB 从 DNA 中游离出来, 导致了 DNA-EB 体系的荧光强度减小, 由此推测, 配合物与 DNA 作用的方式同 EB 与 DNA 作用的方式相似, 即为插入方式<sup>[14]</sup>。

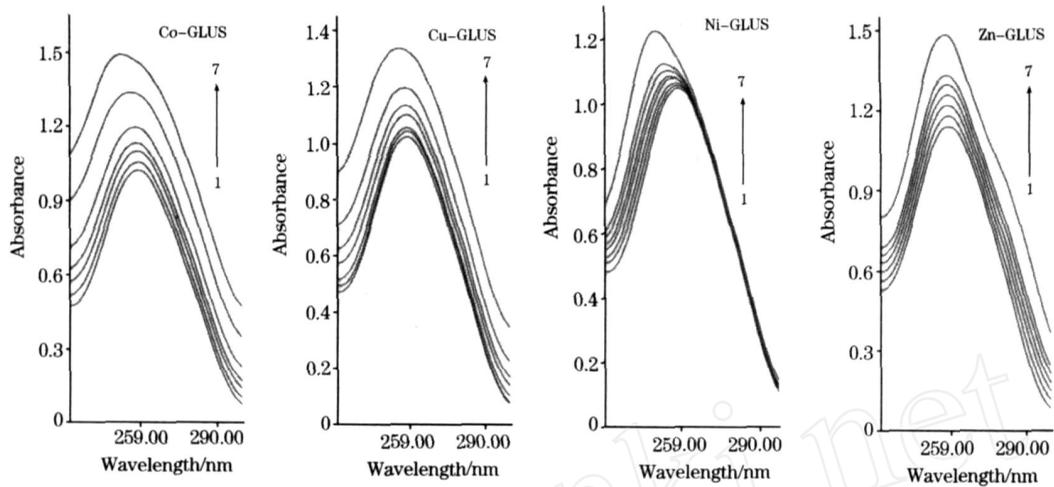


Fig 1 UV absorbance spectra of the interaction between metal complexes and DNA

Co-GLUS, 1~7:  $c(\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}) = 0, 1.25 \times 10^{-7}, 2.50 \times 10^{-7}, 5.01 \times 10^{-7}, 1.00 \times 10^{-6}, 2.01 \times 10^{-6}, 4.01 \times 10^{-6}$ ;  
 Cu-GLUS, 1~7:  $c(\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}) = 0, 6.93 \times 10^{-7}, 1.39 \times 10^{-6}, 2.77 \times 10^{-6}, 5.54 \times 10^{-6}, 1.11 \times 10^{-5}, 2.22 \times 10^{-5}$ ;  
 Ni-GLUS, 1~7:  $c(\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}) = 0, 7.33 \times 10^{-6}, 1.47 \times 10^{-5}, 2.93 \times 10^{-5}, 5.86 \times 10^{-5}, 1.17 \times 10^{-4}, 2.35 \times 10^{-5}$ ;  
 Zn-GLUS, 1~7:  $c(\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}) = 0, 4.31 \times 10^{-7}, 8.62 \times 10^{-7}, 1.73 \times 10^{-6}, 3.44 \times 10^{-6}, 6.88 \times 10^{-6}, 1.38 \times 10^{-5}$

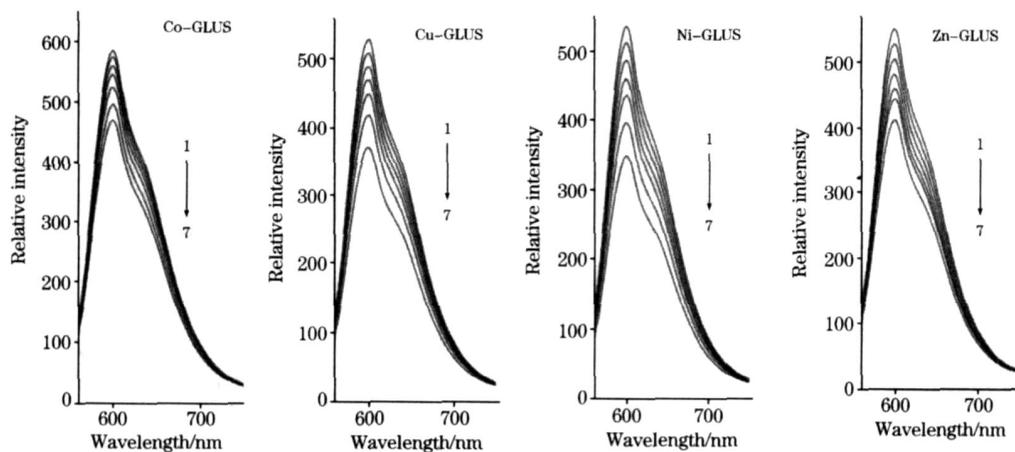


Fig 2 Effects of the metal complexes on the fluorescence spectra of DNA-EB system

Co-GLUS, 1~7:  $c(\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}) = 0, 1.25 \times 10^{-7}, 2.50 \times 10^{-7}, 5.01 \times 10^{-7}, 1.00 \times 10^{-6}, 2.01 \times 10^{-6}, 4.01 \times 10^{-6}$ ;  
 Cu-GLUS, 1~7:  $c(\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}) = 0, 6.93 \times 10^{-7}, 1.39 \times 10^{-6}, 2.77 \times 10^{-6}, 5.54 \times 10^{-6}, 1.11 \times 10^{-5}, 2.22 \times 10^{-5}$ ;  
 Ni-GLUS, 1~7:  $c(\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}) = 0, 7.33 \times 10^{-6}, 1.47 \times 10^{-5}, 2.93 \times 10^{-5}, 5.86 \times 10^{-5}, 1.17 \times 10^{-4}, 2.35 \times 10^{-5}$ ;  
 Zn-GLUS, 1~7:  $c(\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}) = 0, 4.31 \times 10^{-7}, 8.62 \times 10^{-7}, 1.73 \times 10^{-6}, 3.44 \times 10^{-6}, 6.88 \times 10^{-6}, 1.38 \times 10^{-5}$

### 2.3 荧光猝灭方式的判断

根据经典 Stern-Volmer 方程<sup>[15]</sup>,  $F_0/F = 1 + K_q[Q]$ ,  $F_0/F$  为(不存在猝灭剂)/(存在猝灭剂)时的荧光强度,  $K_q$  为与温度有关的猝灭常数,  $[Q]$  表示猝灭剂浓度。无论是动态猝灭或是静态猝灭, 由  $F_0/F$  对  $[Q]$  作图均应得到一条直线。图 3 中得到的均为曲线, 说明金属配合物对 DNA-EB 体系的猝灭并非单纯的静态或动态猝灭, 而可能是两种猝灭方式共同作用的结果。这两种可能性: (1) 药物分子与 DNA 的非嵌插作用使得 DNA 的骨架靠拢, EB 从 DNA 双螺旋中被挤出; (2) 药物分子与 DNA 发生嵌插作用, 将 EB 分子从 DNA-EB 体系中置换出来<sup>[16]</sup>。

### 2.4 配合物与人/牛血清白蛋白的荧光相互作用

蛋白质能够产生荧光, 是由于蛋白质中存在三种氨基酸: 色氨酸(Trp)、酪氨酸(Tyr)、苯丙氨酸(Phe), 它们的荧光强度比通常为 100 : 9 : 0.5。因此大多数情况下以 Trp 残基的荧光猝灭常用来表征药物与 SA 的结合关系。

图 4 和图 5 分别为 HSA/BSA 及不同浓度的金属配合物与 HSA/BSA 反应后的荧光光谱。可以看出, 对配合物-HSA 或配合物-BSA 体系, 当未加入配合物, 激发波长( $\lambda_{ex}$ )为 280 nm 时, HSA 的最大发射波长( $\lambda_{em}$ )均为 337 nm, BSA 的最大发射波长均为 342 nm, 此时蛋白的荧光主要来自色氨酸残基。固定蛋白质的浓度( $3.0 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ), 其荧光强

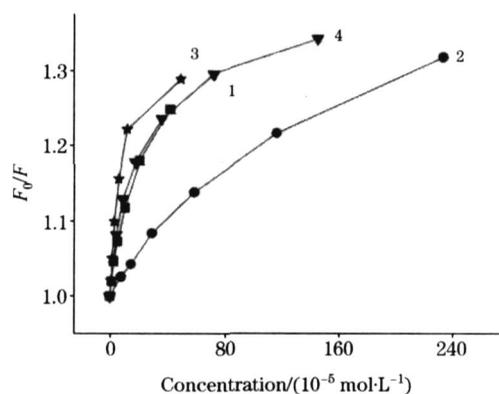


Fig 3 Fluorescence quenching curve of the metal complexes to DNA-EB

1: Co-GLU; 2: Cu-GLU; 3: Ni-GLU; 4: Zn-GLU

度随金属配合物的浓度增大而有规律地降低,表明其与蛋白质发生了相互作用,猝灭了蛋白内色氨酸残基的荧光<sup>[17]</sup>。滴定过程中,最后加入配合物的累加体积( $< 100 \mu\text{L}$ )远小于 $3.0 \text{ mL}$ ,所以可以忽略稀释效应对蛋白质荧光强度的影响。

用 Scatchard 方程<sup>[18]</sup>分析实验数据,

$$\frac{r}{D_f} = nK - rK \quad (1)$$

其中,  $r$  ( $r = F/F_0$ ) 是每摩尔蛋白结合的配体摩尔数,  $D_f$  是游离配体浓度,  $n$  与  $K$  分别是结合位点数与结合常数, 计算可得到结合常数  $K$  值。以  $r/D_f$  对  $r$  作图可得一直线, 由直线的斜率和截距可计算  $n$  和  $K$  值, 结果列于表 2。由表中结果看出,  $K$  值均在  $10^5$  以上, 说明金属配合物与血清白蛋白有较强的结合, 以 Co-GLU 与蛋白结合力最强。同时, 也得到金属配合物与血清白蛋白相互作用只有 1 类键合位的结论。

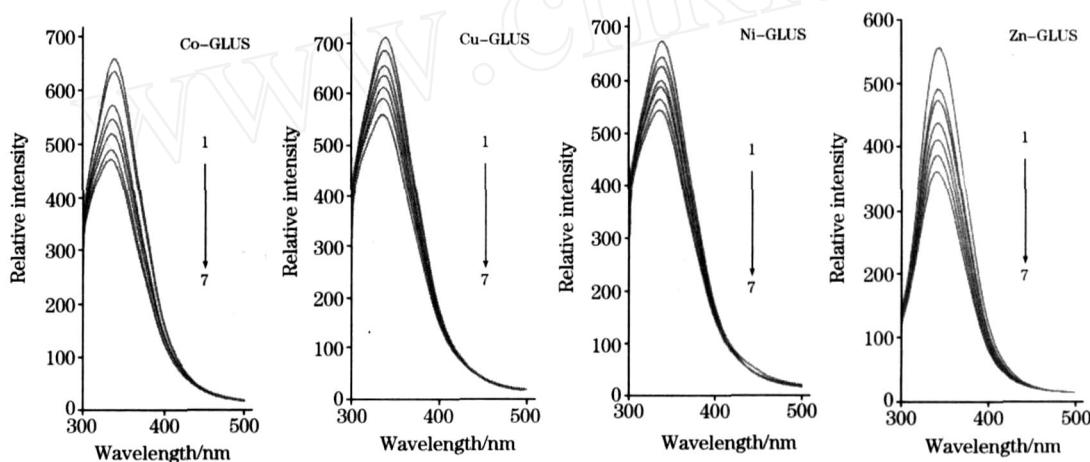


Fig 4 Effect of the metal complexes on the fluorescence spectra of HSA system

Co-GLUS, 1~7:  $c(\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}) = 0, 1.25 \times 10^{-7}, 2.50 \times 10^{-7}, 5.01 \times 10^{-7}, 1.00 \times 10^{-6}, 2.01 \times 10^{-6}, 4.01 \times 10^{-6}$ ;  
Cu-GLUS, 1~7:  $c(\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}) = 0, 6.93 \times 10^{-7}, 1.39 \times 10^{-6}, 2.77 \times 10^{-6}, 5.54 \times 10^{-6}, 1.11 \times 10^{-5}, 2.22 \times 10^{-5}$ ;  
Ni-GLUS, 1~7:  $c(\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}) = 0, 7.33 \times 10^{-6}, 1.47 \times 10^{-5}, 2.93 \times 10^{-5}, 5.86 \times 10^{-5}, 1.17 \times 10^{-4}, 2.35 \times 10^{-5}$ ;  
Zn-GLUS, 1~7:  $c(\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}) = 0, 4.31 \times 10^{-7}, 8.62 \times 10^{-7}, 1.73 \times 10^{-6}, 3.44 \times 10^{-6}, 6.88 \times 10^{-6}, 1.38 \times 10^{-5}$

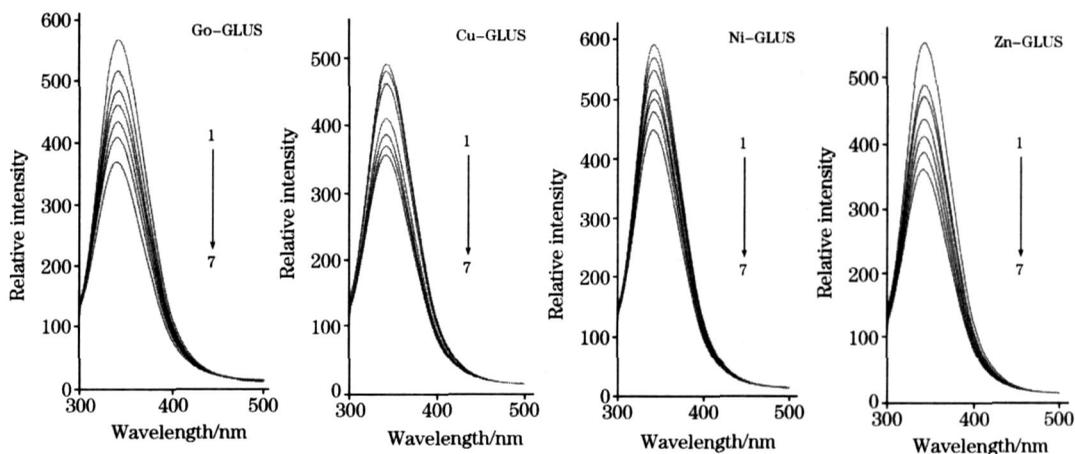


Fig 5 Effect of the complexes on the fluorescence spectra of BSA system

Co-GLUS, 1~7:  $c(\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}) = 0, 1.25 \times 10^{-7}, 2.50 \times 10^{-7}, 5.01 \times 10^{-7}, 1.00 \times 10^{-6}, 2.01 \times 10^{-6}, 4.01 \times 10^{-6}$ ;  
Cu-GLUS, 1~7:  $c(\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}) = 0, 6.93 \times 10^{-7}, 1.39 \times 10^{-6}, 2.77 \times 10^{-6}, 5.54 \times 10^{-6}, 1.11 \times 10^{-5}, 2.22 \times 10^{-5}$ ;  
Ni-GLUS, 1~7:  $c(\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}) = 0, 7.33 \times 10^{-6}, 1.47 \times 10^{-5}, 2.93 \times 10^{-5}, 5.86 \times 10^{-5}, 1.17 \times 10^{-4}, 2.35 \times 10^{-5}$ ;  
Zn-GLUS, 1~7:  $c(\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}) = 0, 4.31 \times 10^{-7}, 8.62 \times 10^{-7}, 1.73 \times 10^{-6}, 3.44 \times 10^{-6}, 6.88 \times 10^{-6}, 1.38 \times 10^{-5}$

**Table 2 Binding parameters of metal complexes with HSA and BSA**

Metal complexes	HSA		BSA	
	$K'/(10^5 \text{L} \cdot \text{mol}^{-1})$	$n$	$K'/(10^5 \text{L} \cdot \text{mol}^{-1})$	$n$
Co-GLUS	8.413 0	0.950 1	7.627 4	0.974 4
Cu-GLUS	4.012 6	0.943 7	8.330 0	0.929 6
Ni-GLUS	3.367 9	0.987 6	2.178 4	0.964 7
Zn-GLUS	5.115 6	0.932 4	6.727 3	0.957 4

葡萄糖配体, 该配体可与  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$  形成稳定的非电解质配合物, 产率约为 70%, 产物易溶于水。配体与各金属盐均以 2:1 进行配位, 硫氨基中的 N 不参与配位,  $-\text{CS}_2$  基团以对称的双齿形式参与配位。光谱学方法对金属配合物与 DNA 和 HSA/BSA 的相互作用研究表明: 金属配合物均可与 DNA 发生作用, 主要结合方式为部分插入; 金属配合物也与 HSA/BSA 有较强的结合, 且只有 1 类键合位, 结合强度为  $\text{Co-GLUS} > \text{Zn-GLUS} > \text{Ni-GLUS} > \text{Cu-GLUS}$ 。

### 3 结 论

通过氨基葡萄糖与二硫化碳反应形成了新型的含硫氨基

### 参 考 文 献

- [ 1 ] SUN Sheng-ling, WANG Ai-qin, GAO Yi-ci (孙胜玲, 王爱勤, 高忆慈). Spectroscopy and Spectral Analysis (光谱学与光谱分析), 2005, 25(3): 374.
- [ 2 ] GUO Zhen-chu, HAN Liang, HU Bo, et al (郭震楚, 韩亮, 胡博, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis (光谱学与光谱分析), 2002, 22(6): 963.
- [ 3 ] YE Yong, HU Ji-ming, ZENG Yurc (叶勇, 胡继明, 曾云鹏). Spectroscopy and Spectral Analysis (光谱学与光谱分析), 2001, 21(5): 623.
- [ 4 ] CHEN Hui-li, YANG Pin (陈绘丽, 杨频). Spectroscopy and Spectral Analysis (光谱学与光谱分析), 2002, 22(6): 983.
- [ 5 ] WANG Jing-zheng, HE Ji-xiang, JIANG Chong-qiu (王敬政, 贺吉香, 江崇球). Chinese Journal of Analytical Chemistry (分析化学), 2001, 29(7): 782.
- [ 6 ] Cater D C, Ho J X. Advances in Protein Chemistry, 1994, 45: 153.
- [ 7 ] Karlin Kenneth D. Progress in Inorganic Chemistry, 2005, 53: 71.
- [ 8 ] Geary W J. Coordination Chemistry Reviews, 1971, 7: 81.
- [ 9 ] Marmur J. J. Mol. Biological Chemistry, 1961, 3: 208.
- [ 10 ] Reichmann M E, Rice S A, Thomas C A, et al. J. American Chemical Society, 1954, 76: 3047.
- [ 11 ] 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.
- [ 12 ] LI Lian-zhi, SONG Ai-xin, HUANG Zhong-xian (李连之, 宋爱新, 黄仲贤). Chinese Journal of Inorganic Chemistry (无机化学学报), 2004, 20(1): 48.
- [ 13 ] YANG Pin, GAO Fei, MA Gui-bin (杨频, 高飞, 马贵斌). Introduction of Bioinorganic Chemistry (生物无机化学导论). Xi'an: Xi'an Jiaotong University Press (西安: 西安交通大学出版社), 1991. 155.
- [ 14 ] ZHANG Li-jin, MIN Shun-geng, LI Guo-xue, et al (张立金, 闵顺耕, 李国学, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis (光谱学与光谱分析), 2005, 25(5): 739.
- [ 15 ] Scatchard G. Annals of the New York Academy of Sciences, 1949, 51(4): 660.
- [ 16 ] LIN Qiu-yue, HU Rui-ding, ZHENG Xiao-hua (林秋月, 胡瑞定, 郑孝华). Spectroscopy and Spectral Analysis (光谱学与光谱分析), 2004, 24(8): 988.
- [ 17 ] Trynda-Lemiesz L, Keppler B K, Kozłowski H. Journal of Inorganic Biochemistry, 1999, 73(3): 123.
- [ 18 ] DU Jin-feng, LI Ying, ZHANG Qi, et al (杜金凤, 李颖, 张岐, 等). Chinese Science Bulletin (科学通报), 2006, 51(24): 2847.

## Synthesis of Sulfur-Contained D( + )- Glucosamine Metal Complexes and Interaction with DNA and Serum Albumin

WU Shan-shan<sup>1</sup>, ZHANG Yin-feng<sup>2</sup>, DU Jin-feng<sup>1</sup>, ZHANG Qi<sup>1\*</sup>, YUAN Wen-bing<sup>1</sup>, GU Hai-bo<sup>1</sup>

1. Hainan Provincial Key Lab of Fine Chem., Hainan University, Haikou 570228, China

2. School of Life Sciences, University of Science and Technology of China, Hefei 230027, China

**Abstract** Four sulfur-contained D(+)-glucosamine metal complexes were synthesized ( $M\text{-GLUS}$ ,  $M = \text{Co}, \text{Cu}, \text{Ni}$  and  $\text{Zn}$ ) and characterized by elementary analysis, molar conductance, and proton nuclear magnetic resonance. The yield of the complex was about 70%, and it dissolved easily in water. The ligand coordinates with metal ions mainly between sulphur and metal ions, the coordination molar ratio of the ligand to metal ion was 2:1, and the molar conductivity indicated that all the complexes are nonelectrolyte. The mechanism of the interaction between metal complexes and calf thymus (ct) DNA in Tris buffer (pH = 7.08), was studied by ultraviolet absorption and fluorescence spectroscopy. The results from varied experiments showed that the intensity of the maximal absorption peaks increased with gradual addition of metal complexes, but the metal ions can decrease the maximal absorption and the ligand has no effect on it. Meanwhile, metal complexes could remarkably quench the emission intensity of the DNA-EB system, and the metal complexes could be bound to ct DNA. The quenching mechanism was discussed by Stern-Volmer's equation, the figure showed that it is influenced by static quenching and dynamic quenching, so the partial interaction of the complexes and ct DNA was the major mode. Under physiological pH condition, this study was designed to examine the effect of complexes on human serum albumin and bovine serum albumin by fluorescence. The binding constants and sites of the interaction with SA were analyzed by the Scatchard's equation, the results indicated that there was a strong interaction between the four metal complexes and serum albumin and the binding force was  $\text{Co-GLUS} > \text{Zn-GLUS} > \text{Cu-GLUS} > \text{Cr-GLUS}$ , and the binding site is only one.

**Keywords** D(+)-Glucosamine; Metal complexes; Ethidium bromide; Calf thymus DNA; Serum albumin

(Received Feb. 28, 2007; accepted May 29, 2007)

\*Corresponding author