

新型稀土抗菌剂与 DNA 作用机理的光谱学研究^①

商艳芳^② 范玉娥

(南通大学化学化工学院 江苏省南通市啬园路 9 号 226019)

摘 要 采用紫外光谱, 荧光光谱研究了 6 种新型的具有抗菌活性的稀土-异亮氨酸-邻菲咯啉三元配合物[RE(III)₃PhenCl₃ · 4H₂O, RE= La、Eu、Sm、Nd、Y、Yb] 与小牛胸腺(CT-DNA) 的作用机理, 研究表明, 三元配合物与 CT-DNA 的作用方式为嵌入作用。这一研究结果为稀土配合物在农牧业作为动植物的广谱抗菌剂方面的应用提供了理论依据, 有利于进一步研究稀土抗菌剂的药理学机理, 进而筛选出高疗效的稀土药物。

关键词 稀土抗菌剂; 异亮氨酸; 邻菲咯啉; 小牛胸腺; 作用机理

中图分类号: O657.32

文献标识码: A

文章编号: 1004-8138(2011)03-4219-04

1 引言

我国的稀土资源丰富, 有关稀土的基础研究和应用开发历来受到政府和科学界的普遍重视^[1]。自 20 世纪 50 年代以来, 稀土配位化学已发展成为一门分支学科, 并且它也越来越广泛地被应用于工业、农业、医药学及其他高科技产业中^[2]。20 世纪 60 年代以来陆续发现稀土配合物具有一系列特殊的药效作用, 如治疗烧伤、抗凝血作用、抗炎及抑菌作用、抗动脉硬化和抗肿瘤作用等^[3]。大量实验结果表明, 稀土配合物属于毒性较低的物质, 比许多有机合成药物或过渡金属配合物毒性低, 通过口服或外用稀土配合物未发现在体内积累^[4]。目前稀土药物正式用于临床的为数不多, 稀土在医学领域的应用还处于开发和发展阶段, 需要探索新型、高效、低毒的稀土药物, 研究其性质与结构, 以期达到增效、提高选择性或降低副作用的目的。为此, 本文采用紫外-可见吸收光谱, 荧光光谱研究了 6 种新型的具有抗菌活性的稀土-氨基酸-邻菲咯啉三元配合物(有关合成、表征与抗菌活性的研究已另文发表^[5]) 与 CT-DNA 的作用机理。这一研究结果有利于稀土药物药理学机理的进一步研究, 为今后筛选出高疗效的稀土药物提供了理论基础^[6]。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

UV-265 紫外分光光度计(日本岛津公司)用于记录紫外吸收光谱, 荧光测量在 RF-5301PC 荧光分光光度计(日本岛津公司)上进行。

小牛胸腺(CT-DNA, 美国 Sigma 公司), DNA 浓度(以核苷酸计)是通过在 260nm 处的摩尔吸光系数为 $6600\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ 确定^[7]。DNA 的储备液保存在 4℃, 使用寿命不超过 5 天。其他试剂

① 南通大学校级自然科学项目资助课题(07z025)

② 联系人, 电话: (0513) 83576448; 手机: (0) 13861987216; E-mail: shangyanfang@ntu.edu.cn

作者简介: 商艳芳(1976—), 女, 山西省阳泉市人, 硕士, 副教授, 从事无机及分析化学教学与研究工作。

收稿日期: 2010-09-13; 接受日期: 2010-09-21

均为分析纯。实验用水为二次蒸馏水。

2.2 稀土配合物的合成^[5]

按稀土： L -异亮氨酸：1，10-邻菲咯啉为 1：3：1 的摩尔比，分别准确称取一定质量的稀土氯化物(1mmol)和 1，10-邻菲咯啉(1mmol)溶于一定量的无水乙醇中，装磁力搅拌回流装置，加热至 50℃，冷凝回流 0.5h，再准确称取一定质量的 L -异亮氨酸(3mmol)溶于 1：1 的乙醇水溶液中(可在 70℃水浴中加热助溶)，待完全溶解后，逐滴加入到以上混合溶液中，20min 加完，调节 pH 值至 6 左右，继续回流 5h，静置过夜，水浴蒸发至呈粘稠状，沉淀结晶，用丙酮洗涤 2—3 次，沉淀真空干燥，研成粉末，置于干燥器中保存待用。

2.3 紫外光谱法研究配合物与 CT-DNA 的作用机理

在 1cm 比色皿中准确加入 1.0×10^{-4} mol/L CT-DNA 溶液(缓冲体系为 10mmol/L Tris-50mmol/L NaCl 缓冲溶液，pH 为 7.2) 3mL，在 200—400nm 范围内扫描其紫外光谱。每隔 10min 向其中加入 30 μ L 1.0×10^{-3} mol/L 稀土-异亮氨酸-邻菲咯啉三元配合物溶液 [RE(Ile)³PhenCl₃·4H₂O, RE = La、Eu、Sm、Nd、Y、Yb] (使比色皿中三元配合物浓度分别为 1.0×10^{-5} , 2.0×10^{-5} , 3.0×10^{-5} , 4.0×10^{-5} , 5.0×10^{-5} mol/L)，在 200—400nm 范围内扫描其紫外光谱。

2.4 荧光法研究配合物与

CT-DNA 的作用机理

在 1cm 吸收池中准确加入 1.5mL 1.0×10^{-5} mol/L CT-DNA 和 1.5mL 1.0×10^{-5} mol/L 溴化乙锭(EB)溶液(缓冲体系为 10mmol/L Tris-50mmol/L NaCl 缓冲溶液，pH 为 7.2)，选定激发波长为 480nm，激发光谱通带与发射光谱通带均为 10nm，测定其荧光发射光谱。每隔 10min 向其中加入 60 μ L 1.0×10^{-3} mol/L 三元配合物溶液(使比色皿中三元配合物浓度分别为 2.0×10^{-5} , 4.0×10^{-5} , 6.0×10^{-5} , 8.0×10^{-5} , 1.0×10^{-4} mol/L)，在给定的条件下测其荧光发射光谱。

3 结果与讨论

3.1 紫外光谱分析

在体积为 3.0mL 1.0×10^{-4}

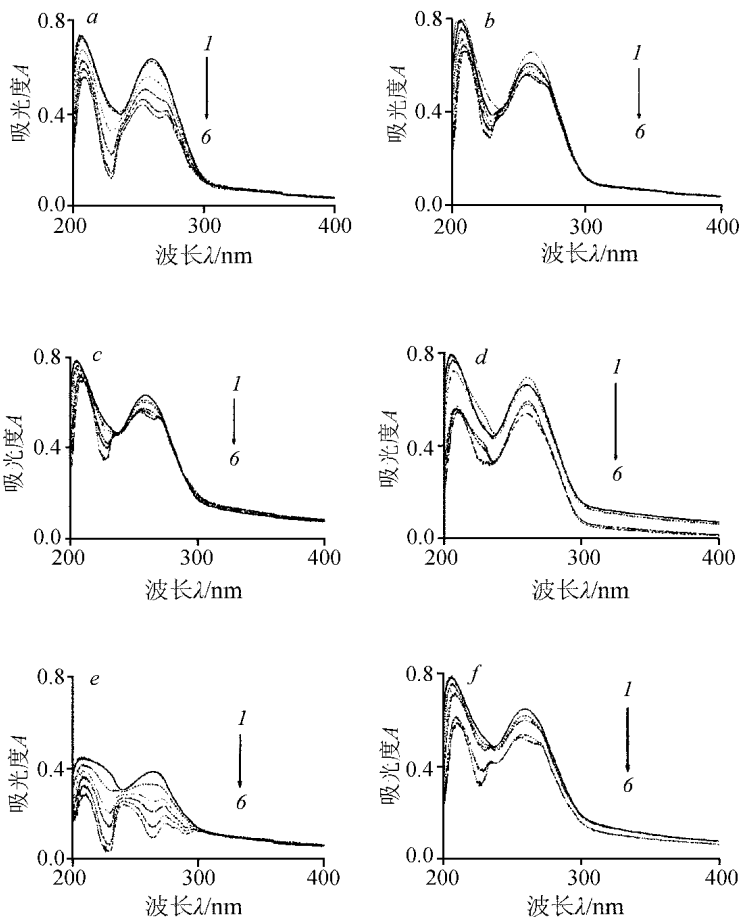


图 1 不同浓度的配合物与 CT-DNA 作用的紫外光谱

图 1 中 a—f 分别为配合物 La-Ile-phen、Nd-Ile-phen、Sm-Ile-phen、Eu-Ile-phen、Yb-Ile-phen 和 Y-Ile-phen 与 CT-DNA 作用的紫外吸收光谱图，图中曲线 1—6 由上至下配合物的浓度分别为 0 , 1.0×10^{-5} , 2.0×10^{-5} , 3.0×10^{-5} , 4.0×10^{-5} , 5.0×10^{-5} mol/L。

mol/L 的 CT-DNA 溶液中每间隔 10min 加入等体积 (30μL) 浓度为 1.0×10^{-3} mol/L 的三元配合物, 在给定条件下扫描其吸收光谱。图 1 给出了三元配合物与 CT-DNA 作用的紫外光谱图。

通常, 小分子与 DNA 的非共价键结合作用有 3 种方式: 嵌入作用, 沟槽作用和静电作用^[8]。由图 1 可以看出, DNA 在 210nm 和 260nm 附近出现两个较强的吸收峰, 由于三元配合物本身在 260nm 附近也存在一较强的吸收峰, 加入配合物后, 吸收峰相互叠加, 不易观察其变化趋势。由图中 210nm 附近出现的吸收峰可以看出, 随着配合物浓度的增加, 吸收光谱均出现了明显的减色效应和红移现象, 由此可以初步判断, 配合物与 CT-DNA 相互作用的方式可能为嵌入作用。

3.2 荧光光谱分析

在体积为 3.0mL 1.0×10^{-5} mol/L 的 EB-DNA 溶液中每间隔 10min 加入等体积 (60μL) 浓度为 1.0×10^{-3} mol/L 的三元配合物, 在激发波长为 480nm, 激发光谱通带与发射光谱通带均为 10nm 条件下扫描其发射光谱。图 2 给出了三元配合物与 CT-DNA 作用的荧光发射光谱图。

稀土配合物对 EB-DNA 体系荧光强度的影响如图 2 所示, a—f 分别为配合物 La-Hle-phen、Nd-Hle-phen、Sm-Hle-phen、Eu-Hle-phen、Y-Hle-phen 和 Yb-Hle-phen 与 CT-DNA 作用, 图中曲线由 1 至 6 配合物的浓度分别为 $0, 2.0 \times 10^{-5}, 4.0 \times 10^{-5}, 6.0 \times 10^{-5}, 8.0 \times 10^{-5}, 1.0 \times 10^{-4}$ mol/L。在不同量的稀土配合物存在下, EB-DNA 体系的最大发射波长没有发生移动, 其荧光强度随 $r(C_{RE}/C_{DNA})$ 的增大而减小。通常, 当 EB-DNA 体系荧光强度减弱 50% 且 $r(C_{RE}/C_{DNA}) < 100$ 时, 就认为 M 与 DNA 发生了类似于 EB 的嵌入作用^[9]。通过计算, EB-DNA 体系的荧光强度减弱 50% 时, 稀土 La、Nb、Sm、Eu、Y 和 Yb 与 CT-DNA 的浓度比 r 分别为 71.23, 54.44, 84.10, 61.23, 99.88 和 75.41, $r(C_{RE}/C_{DNA})$ 均小于 100。说明稀土配合物发生了类似于 EB 的嵌入作用。稀土配合物的加入, 取代了 EB-DNA 复合物体系中的相当数量 EB 分子, 导致 EB-DNA 体系荧光强度的较大降低, 说明配合物与 EB 发生了相当程度的竞争反应。

4 结论

配合物与 CT-DNA 作用的紫外光谱和荧光光谱研究表明, 稀土邻菲咯啉-异亮氨酸与 CT-DNA 相互作用的方式为嵌入作用。这一研究结果为稀土配合物在农牧业作为动植物的广谱抗菌剂方面的应用提供了理论依据, 有利于进一步研究稀土抗菌剂的药理学机理, 进而筛选出高疗效的稀土药物。

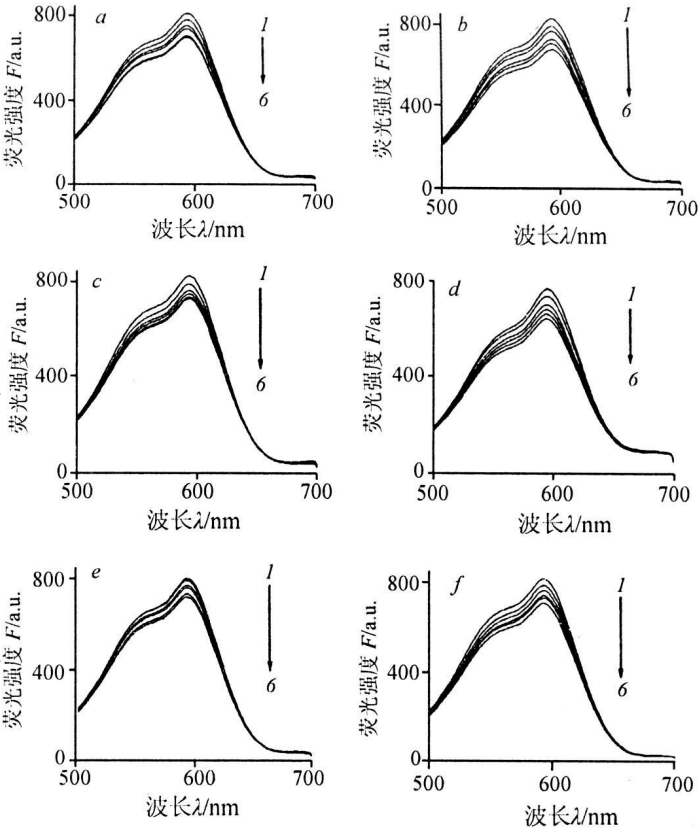


图 2 不同含量三元配合物对 EB-CT-DNA 荧光发射光谱图的影响

参考文献

- [1] 张为, 凌晓, 赵冰清等. 稀土长链配合物的合成及其性质研究[J]. 分析测试学报, 2007, **26**(3): 347—351.
- [2] 乔一方, 潘湛昌, 彭康华. 稀土配位及稀土配合物在发光领域的应用[J]. 广州化工, 2006, **34**(2): 10—12.
- [3] 陈建兰, 郝新民, 曾正志. 稀土及其配合物药理学性质研究概况[J]. 西北师范大学学报(自然科学版), 1999, **35**(4): 100—105.
- [4] 吴集贵, 邓汝温, 曾正志等. 稀土在医药中的应用研究概况[J]. 有色金属与稀土应用, 1994, **6**(1): 19—22.
- [5] 商艳芳, 葛存旺, 吴昌月等. 稀土-蛋氨酸-邻菲咯啉配合物的合成、表征及抗菌活性研究[J]. 化学试剂, 2009, **31**(12): 971—973, 980.
- [6] 邓温汝, 张仲生. 稀土药物和药学性质[J]. 稀土, 1987, **3**(1): 38—49.
- [7] Kelly J M, Lyons M E G, Vander W J M *et al.* *Electrochemistry, Sensor and Analysis, Analytical Chemistry Symposium Series*[M]. New York: Amsterdam, 1996. 205.
- [8] 李来生, 王丽苹, 黄伟东等. 荧光法研究金属络合物与脱氧核糖核酸的相互作用[J]. 分析化学研究报告, 2002, **6**(1): 675—679.
- [9] 杨武, 高琦宽, 芦小林等. 硫杂蒽酮稀土铜配合物与 DNA 相互作用的研究(II)[J]. 光谱学与光谱分析, 2008, **28**(2): 366—369.

Action Mechanism of Novel Rare Earth Antibacterial Agents with CT-DNA by Spectroscopy

SHANG Yan-Fang FAN Yu-E

(School of Chemistry and Chemical Engineering, Nantong University, Nantong, Jiangsu 226019, P. R. China)

Abstract The action mechanism between the calf thymus deoxyribonucleic acid(CT-DNA) and six novel rare earth ternary complexes $[RE(Le)_3PhenCl_3 \cdot 4H_2O]$, $RE = La, Eu, Sm, Nd, Y, Yb$ with strong antibacterial activities were investigated by UV and fluorescence spectroscopy. The interactions of ternary complexes with CT-DNA were embedded mode. The promoting results provide theoretical basis in the application of the rare earth complexes as the broad-spectrum antibacterial agents for animals and plants, which is very beneficial to research further the drug mechanism of rare earth antibacterial agents, and to screen out higher curative effect drugs further.

Key words Rare Earth Antibacterial Agents; Isoleucine; 1, 10-Phenanthroline; CT-DNA; Action Mechanism

关于赠送作者样刊、发放稿酬和购买书刊的通知

各有关作者:

本刊赠送作者发表自己论文的当期刊物(样刊), 均按篇赠送 2 本, 用挂号印刷品邮件, 按稿件中标明的作者联系人姓名和地址邮出。样刊是赠品, 一次性的, 遗失不再补赠。若遗失或作者还需要, 请在出版之日起 2 个月之内汇款购买(2011 年, 60 元/本, 免收邮寄费), 逾期不再办理。欲购买者, 请通过电子邮件(发到 gpsys@periodicals.net.cn)与本编辑部联系。

由于普通印刷品邮寄的送达时间不稳定, 若作者急需, 最迟请在接到《发表通知》的电子邮件后, 3 日内预交特快专递费(30 元/件), 过时不候。

给作者发放的稿酬均邮寄给联系人, 在发表之日后约 20 日左右汇出。请各位联系人接到邮局通知后, 务必及时到邮局领取。若 2 个月未领[或作者联系人地址不确(如挂名的、摆设的)、姓名有误], 被邮局退回, 本刊不再补发。

由于联系人是作者签署的《论文著作权转让书》确认的, 因而变更联系人必须另签“变更《论文著作权转让书》的承诺”。

光谱实验室编辑部