

# 二(2-苯并咪唑亚甲基)胺合镱的合成及其与 DNA 作用的光谱研究<sup>1</sup>

欧阳泽英 肖小明<sup>o</sup> 张金艳 徐莎莎

(湖南师范大学化学化工学院 长沙市岳麓区麓山路 36 号 410081)

**摘要** 首次微波合成二(2-苯并咪唑亚甲基)胺(L)及其稀土金属镱的配合物 $[\text{DyL}_2(\text{NO}_3)_2]\text{NO}_3$ , 用红外、元素分析、核磁共振、摩尔电导对其进行表征。用紫外可见光谱、荧光光谱、粘度研究了该配合物与鲑鱼精脱氧核糖核酸(DNA)的作用规律, 结果表明: 配合物以部分插入和静电作用模式与 DNA 键合。

**关键词** 二(2-苯并咪唑亚甲基)胺, 镱配合物, 脱氧核糖核酸, 光谱。

中图分类号: O657.33; O657.2

文献标识码: A

文章编号: 1004-8138(2009)01-0067-04

## 1 引言

多苯并咪唑类衍生物具有质子泵抑制性、抗菌性、抗寄生虫性、抗病毒性、动脉粥样硬化活性等药用活性与工业抗蚀剂及其航天应用, 而耐高温的聚苯并咪唑复合材料和低毒高效的苯并咪唑类抗癌药物的研究与合成是该领域未来研究的热点。二(2-苯并咪唑亚甲基)胺金属配合物作为超氧化物歧化酶的模型化合物, 具有超氧化物歧化酶(SOD)的生物活性<sup>[1,2]</sup>, 目前已合成了二(2-苯并咪唑亚甲基)胺(L)与  $\text{Zn}(\text{E})$ 、 $\text{Co}(\text{E})$ 、 $\text{Cu}(\text{E})$ 、 $\text{Mn}(\text{E})$ <sup>[3]</sup> 等不同配位比例的配合物, 它们与脱氧核糖核酸(DNA)的主要作用模式是静电作用。其与  $\text{Mn}(\text{E})$  形成的配合物能有效地切割双链 DNA。近年来, 国内外许多学者还致力于研究二(2-苯并咪唑亚甲基)胺的过渡金属配合物, 结果表明此类配合物主要以静电模式与 DNA 作用, 还具有对 DNA 或核糖核酸(RNA)进行定点切割的化学核酸酶作用。稀土金属离子及其配合物作为核酸模拟酶显示出较好的水解断裂活性和选择性<sup>[4]</sup>。因此本文合成一种新型二(2-苯并咪唑亚甲基)胺合镱稀土配合物, 并研究了其与鲑鱼精 DNA 的作用。

## 2 实验部分

### 2.1 试剂和仪器

邻苯二胺(化学纯, 上海中国五联化工厂); 亚氨基二乙酸(化学纯, 上海国药集团化学试剂有限公司); 乙二醇(分析纯, 湖南师大化学试剂厂); 鲑鱼精 DNA(北京鼎国公司)。

NJL07-3 型实验专业微波炉(南京杰全微波设备有限公司, 微波输出功率 700W, 微波频率 2455MHz); 美国 Varian Unity INOVA 500 核磁共振波谱仪(TMS 作内标, DMSO-d<sub>6</sub> 为溶剂, 500MHz); WQF-200 傅立叶交换红外光谱仪(北京第二光学仪器厂); Vario-EL 元素分析仪(德国 ELEMENTAR 公司); Finnigan LCQ Advantage MAX 质谱仪(美国热电公司); F-4500 荧光光谱仪(日本岛津公司); DDS-12A 数字电导率仪(萧山市鑫龙医疗仪器公司)。

<sup>1</sup> 湖南省教育厅重点课题资助项目(08A045)

<sup>o</sup> 联系人, 电话: (0)13786126896; E-mail: xm.xiao@hunnu.edu.cn

作者简介: 欧阳泽英(1974—), 男, 湖南省邵阳市人, 硕士研究生, 主要从事功能配合物的微波合成及与 DNA 作用的光谱研究。

收稿日期: 2008-10-09; 接受日期: 2008-10-13

## 2.2 配合物的合成

### 2.2.1 二(2-苯并咪唑亚甲基)胺的微波合成

氮气保护, 在 25mL 的圆底烧瓶中加入 2mmol 亚氨基二乙酸、4.2mmol 邻苯二胺和 1mL 乙二醇, 0.1mL 6mol/L 盐酸。先在低功率下辐射 2min, 再在高功率下间歇式辐射 12—18min, 直到溶液变为浅红色停止微波辐射; 然后将浅红色的反应液冷却到室温, 倒入 20mL 冰水中, 得到白色混浊物, 静置, 过滤得白色粉末状的固体; 用丙酮和水(1:1)重结晶得白色针状的晶体, 真空室温干燥, 得到白色固体, 产率为 80%。IR  $M(\text{KBr} \cdot \text{cm}^{-1})$ : 1623 $\text{cm}^{-1}$ (C=C), 1453 $\text{cm}^{-1}$ (C=N), 1330 $\text{cm}^{-1}$ (脂肪 C—N), 1272 $\text{cm}^{-1}$ (苯并咪唑 C—N), 745 $\text{cm}^{-1}$ (苯环 C—H);  $^1\text{H NMR}$  (DMSO- $d_6$ , 500MHz)  $\delta$ : 12.3(s, 1H, N—H), 7.14(m, 4H), 7.5(d, 4H), 4.0(s, 4H); MS,  $m/Z(\%) = 278.1$  ( $[M+H]^+$ ), 元素分析%(理论计算值%)为: C 69.30(69.39), H 5.41(5.48), N 25.29(25.13); 以上光谱值都与文献[3]值相符。

### 2.2.2 二(2-苯并咪唑亚甲基)胺合镉的合成

称取 0.1mmol 氧化镉置于干燥烧杯中, 加入适量的稀硝酸, 然后小火加热蒸发稀硝酸至有晶膜出现, 冷却至室温, 再加入无水乙醇使其溶解, 一并加入到装有 0.22mmol 二(2-苯并咪唑亚甲基)胺的 50mL 烧瓶中, 在 65 $^{\circ}\text{C}$  下搅拌回流 6h 后, 将溶液的 pH 值调到 5—6, 静置一夜后抽滤, 用无水乙醇洗涤得到白色粉末, 真空干燥, 产率为 48%。

## 2.3 配合物和鱼精 DNA 作用的光谱研究

配合物与鱼精 DNA 的作用的紫外光谱的研究是以相应浓度的配合物缓冲溶液作为空白对照液, 测定时样品池和空白池分别装 2mL 溶液, 固定配合物浓度为  $2.0 \times 10^{-5}$  mol/L 乙醇-Tris 溶液, 然后以不同的  $R(C_{\text{DyL}}/C_{\text{DNA}}, \text{DyL}$  为镉的配合物) 加入 DNA, 室温下, 进行紫外扫描, 如图 3。荧光光谱是固定配合物的浓度  $2.0 \times 10^{-5}$  mol/L 的 DMF-Tris 溶液, DNA 的浓度依次增大。室温下, 以激发波长 329nm, 狭缝  $E_x = E_m = 5\text{nm}$ , 室温下在 349—650nm 范围内进行扫描, 如图 4。DNA 粘度测定是温度恒定在  $(27 \pm 0.1)^{\circ}\text{C}$ , 对不同的  $R(C_{\text{DNA}}/C_{\text{DyL}})$  进行测量, 再以  $(G/G_0)^{1/3}$  对 R 作图, G 代表加入配合物时的 DNA 的粘度,  $G_0$  代表 DNA 单独存在时的粘度, 如图 5。

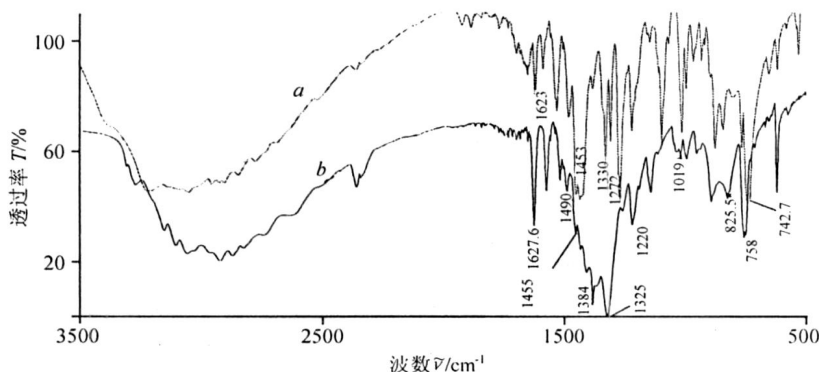


图 1 配体 a 与配合物 b 的红外光谱图

## 3 结果与讨论

### 3.1 配合物的表征

25 $^{\circ}\text{C}$  测定了浓度为  $1 \times 10^{-3}$  mol/L 配合物的 DMF 溶液的摩尔电导为  $213\text{cm}^2 \cdot \text{s} \cdot \text{mol}^{-1}$  说明

该配合物外界离子个数比为 1 : 3 型电解质<sup>[5]</sup>。配体和配合物的红外图(图 1)可知,配体在  $1623\text{cm}^{-1}$  ( $\text{C}=\text{C}$ ),  $1453\text{cm}^{-1}$  ( $\text{C}=\text{N}$ ),  $1330\text{cm}^{-1}$  (脂肪  $\text{C}-\text{N}$ ),  $1272\text{cm}^{-1}$  (苯并咪唑  $\text{C}-\text{N}$ ),  $745\text{cm}^{-1}$  (苯环  $\text{C}-\text{H}$ ) 的特征峰,在配合物中分别移至  $1627, 1455, 1325, 1220, 758\text{cm}^{-1}$  处。另外,从红外谱图中我们还可以看到在  $1384\text{cm}^{-1}$  处有一尖峰,说明有自由的硝酸根存在,在  $1490, 1019, 825.8\text{cm}^{-1}$  附近有不同强度的特征峰,说明有硝酸根参与了配位。这说明与  $\text{Dy}^{3+}$  配位的不仅有配体二(2-苯并咪唑亚甲基)胺还有硝酸根。 $^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO}-d_6, 500\text{MHz}$ ), D 7.501 (m, 8H), 7.784 (d, 8H), 4.018 (s, 8H); 元素分析%(理论计算值%)为: C 40.87 (40.92), H 3.53 (3.65), N 19.61 (19.53)。由上可知配合物的可能结构为  $[\text{DyL}_2(\text{NO}_3)_2]\text{NO}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 结构如同图 2。

### 3.2 配合物与鱼精 DNA 的作用的光谱研究

从图 3 可知,配合物在  $210\text{nm}$  处有最大特征峰,是分子内配体的  $\text{P}-\text{P}^*$  跃迁所形成,随着 DNA 的不断加入,配合物特征吸收峰在发生红移同时有明显的减色效应。这是因为配合物中配体芳环插入到 DNA 螺旋碱基对,芳环与碱基之间发生  $\text{p}-\text{p}^*$  堆砌作用造成的<sup>[6]</sup>,但是减色不大,表明配合物与 DNA 发生了键合作用,可能是部分插入但不是经典插入。键和常数只有  $10^3$  比经典的插入模式  $10^6$  小<sup>[7]</sup>。可能是空间位阻影响而使配合物的苯环只能部分插入 DNA 的碱基对中,因此减色不明显。

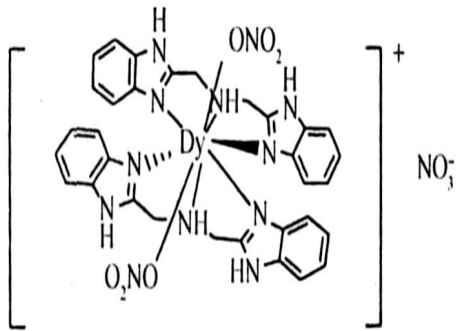


图 2 配合物  $[\text{DyL}_2(\text{NO}_3)_2]\text{NO}_3$  结构示意图

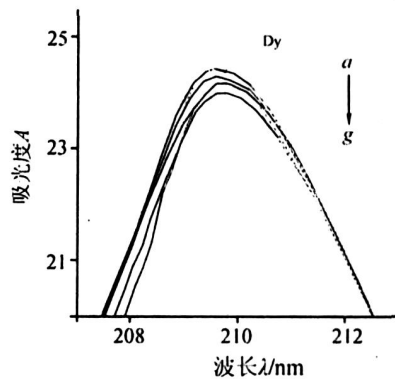


图 3  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}-\text{Tris}$  (1 : 1, V/V, pH = 7.2) 缓冲溶液中, 镝配合物 ( $2 \times 10^{-5} \text{mol/L}$ ) 在 DNA 不同浓度下的紫外光谱  
 $\text{C}_{\text{DNA}}-\text{g}: 0, 0.77, 1.54, 2.31, 3.08, 3.85, 4.62 \text{mol/L}$ 。

激发波长为  $329\text{nm}$  的条件下,配合物在  $389\text{nm}$  处产生荧光发射峰。图 4 结果显示, DNA 使配合物获得了更大荧光发射峰。随着 DNA 浓度增大, 荧光发射强度越显著。当  $\text{C}_{\text{DNA}}$  为  $4.6 \times 10^{-6} \text{mol/L}$  时, 配合物荧光值增大到 1.8 倍。这是因为 DNA 大分子中螺旋碱基对对插入的疏水性配体起到保护作用造成的。由此推断, 配合物与 DNA 应该是插入模式, 结合紫外光谱结果分析, 该配合物与 DNA 作用是以插入为主, 静电为附的两种作用模式。

恒温在  $(27 \pm 0.1)^\circ\text{C}$  的条件下, 使配合物与鱼精 DNA 反应 1h 后对不同  $R(\text{C}_{\text{DNA}}/\text{C}_{\text{DyL}})$  进行粘度测定。从图 5 可知,  $R$  在 0—0.1 之间随着  $R$  值的增加, DNA 的粘度减少, 也就是配合物在高浓度下, 配合物的相对电荷密度大与 DNA 的磷酸骨架静电引力大, 因此以静电作用为主;  $R$  在 0.1—0.4 之间随着  $R$  值的增加, DNA 的粘度逐渐增加, 后面逐渐饱和, 也就是配合物在低浓度下, 相对电荷密度小与 DNA 磷酸骨架作用小, 因此以插入作用为主。再次说明该配合物以插入和静电两种

模式与 DNA 作用。

## 4 结论

通过微波成功合成了二(2-苯并咪唑亚甲基)胺及其稀土金属镝的配合物。通过紫外可见光谱、荧光光谱、粘度方法研究了镝配合物与鱼精 DNA 的相互作用, 研究表明该配合物在高浓度下以静电作用为主和在低浓度下以插入作用为主的多种作用模式与鲑鱼精 DNA 发生键合作用。

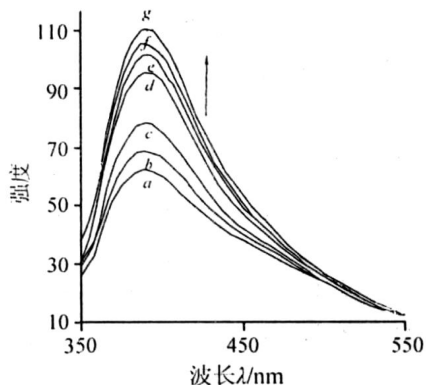


图 4 镝配合物( $2 \times 10^{-5}$  mol/L)在 DMF-T ris (1 : 1, V/V, pH= 7. 2) 缓冲溶液中, 随 DNA 浓度增加的荧光光谱图

$C_{DNA}$ —g: 0, 0. 77, 1. 54, 2. 31, 3. 08, 3. 85, 4. 62 mol/L。

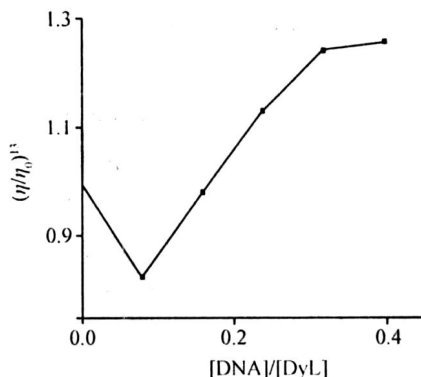


图 5 在 DMF-T ris(1 : 1, V/V, pH= 7. 2) 缓冲溶液中 DNA 的粘度随镝配合物的浓度变化

## 参考文献

- [1] Coughlin P K, Martin A E, Dean J C, Watanabe E I, Bulkowski J E, Lehn J M, Lippard S. Synthesis and Structure of the Imidazole-Bridged Dycopper(II) Ion in Two Binucleating Macrocycles[J]. *Inorg. Chem. Soc.*, 1984, 23(8): 1004—1009.
- [2] Su C Y, Cai Y P et al. Ligand Directed Molecular Architectures[J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 2003, 125(28): 8595—8613.
- [3] 周庆华, 杨频. 二(2-苯并咪唑亚甲基)胺合铜(II)配合物与 DNA 作用方式的光谱研究[J]. *化学学报*, 2005, 63(1): 71—74.
- [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.
- [5] 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.
- [6] 张黔玲, 刘剑洪, 徐宏, 任祥忠, 刘建忠, 计亮年. 镍(II)多吡啶配合物的合成及其插入配体的形状对键合 DNA 的影响[J]. *中山大学学报*, 2003, 42(3): 21—24.
- [7] Cory M, Mckee D D, Kagan J, Henry D W, Miller J A. Design, Synthesis, and DNA Binding Properties of Bifunctional Intercalators. Comparison of Polymethylene and Diphenyl-Ether Chains Connecting Phenanthridine[J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 1985, 107(8): 2528—2536.

# Synthesis and Spectrum Study of Compound Dysprosium(III)-Bis(2-Benzimidazolylmethyl) Amine and Its Interaction with DNA

OU YANG Ze-Ying XIAO Xiao-Ming ZHANG Jin-Yan XU Sha-Sha  
(College of Chemistry and Chemical Engineering Hunan Normal University, Changsha 410081, P. R. China)

**Abstract** The bis(2-benzimidazolylmethyl) amine was synthesized under the microwave irradiation, and the complex ( $[DyL_2(NO_3)_2]NO_3$ ) (where L is bis(2-benzimidazolylmethyl) amine) was synthesized and characterized by IR spectra, elemental analysis and molar conductivity. The reaction principles of the compound with sperm DNA were determined by UV-spectra, fluorescence spectra and viscosity measurement. The dysprosium(III) complex bind to DNA base pairs by partial intercalation and electrostatic binding.

**Key words** Bis(2-Benzimidazolylmethyl) Amine, Dysprosium(III) Compound, DNA, Spectrum.