

桂皮酸-镧(III)配合物与鲑鱼精 DNA 的相互作用

李小芳^{1*}, 冯小强¹, 杨声²

¹天水师范学院生化学院, 天水 741001; ²定西师范高等专科学校, 定西 743000

摘要: 制备了桂皮酸-镧(III)配合物, 通过紫外-可见光谱法研究了桂皮酸与 La(III) 的相互作用, 发现 La(III) 与桂皮酸可形成 1:2 的配合物, 该配合物的摩尔吸光系数 $\epsilon = 4.9 \times 10^6 \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$ 。此外, 采用紫外吸收光谱、荧光光谱和粘度法, 研究了配合物与鲑鱼精 DNA 之间的相互作用。结果显示配合物与 DNA 作用的结合常数 $K = 4.47 \times 10^3 \text{ L}/\text{mol}$, DNA 与配合物的作用摩尔比为 1:3, 作用模式为插入作用。

关键词: 桂皮酸; 镧配合物; DNA; 作用

中图分类号: O629.74

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2015.04.015

Interaction Mechanism between Cinnamic acid-La (III) Complex and Herring Sperm DNA

LI Xiao-fang^{1*}, FENG Xiao-qiang¹, YANG Sheng²

¹ Central laboratory of College of Life Science and Chemistry, Tianshui Normal University, Gansu Tianshui 741001, China;

² Dingxi Teachers' College, Gansu Dingxi 743000, China

Abstract: The UV-Vis spectroscopy was used to study the interaction of cinnamic acid with the La (III). The results showed that La (III) and cinnamic acid can form a complex with the molar ratio of 1:2, and its molar absorptivity was $\epsilon = 4.9 \times 10^6 \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$. In addition, the interaction between cinnamic acid-La (III) complex and DNA was studied. The results showed that the intercalation effects existed between DNA and complex, and the binding constant k was $4.47 \times 10^3 \text{ L}/\text{mol}$ of complex with DNA, the molar ratio of 1:3.

Key words: cinnamic acid; La (III) complex; DNA; interaction

稀土化合物具有很好的杀菌、抗凝血、低毒、发光等特性^[1-3], 研究还发现, 将具有抗肿瘤活性的配体与稀土离子形成小分子配合物后, 稀土配合物的抗肿瘤活性强于配体^[4]。因此, 稀土配合物现已广泛地被研究用于 DNA 的结构探针、分子光开关和抗肿瘤药物等领域。医学上许多防癌、抗癌、治癌的药物都是以 DNA 为靶来设计。因此, 研究金属配合物与 DNA 的作用机制, 将有助于了解抗肿瘤药物的作用机理, 为设计开发低毒特效药物提供了理论依据, 具有指导意义。

桂皮酸具有广泛的抗实体肿瘤活性, 能抑制肿瘤的增殖并诱导其分化, 并能调节植物生长和杀菌等生物活性^[5]。小分子配合物对肿瘤细胞的抗肿瘤活性作用通过插入 DNA 实现其功能^[6]。因而, 本文新合成并初步研究了桂皮酸-La(III)配合物与

DNA 的作用机制, 此项工作对于在分子和细胞水平上研究癌症的起因, 寻找新的具有潜在的抗肿瘤活性的药物有重要意义。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

桂皮酸(上海中秦化学试剂有限公司), LaCl₃(甘肃稀土新材料有限公司), 中性红(NR, 上海中秦化学试剂有限公司), 鲑鱼精 DNA(Sigma 公司产品, $A_{260}/A_{280} = 1.85$), 其它试剂均为分析纯, 实验用水为二次蒸馏水。UV-2450 紫外分光光度计(日本岛津公司), RF-5301PC 荧光分光光度计(日本岛津公司), 乌氏贝德粘度计(上海市青浦县前明玻璃仪器厂)。

1.2 配合物与鲑鱼精 DNA 的作用

紫外吸收光谱: 在参比池和样品池中分别加入 2.4 mL 二甲亚砜(DMSO)和 2.4 mL 配合物溶液, 依次用 DNA 分别滴定样品池和参比池, 混匀放置 5

收稿日期: 2014-04-23 接受日期: 2014-09-26

基金项目: 天水师范学院“青蓝”人才工程(TSA1305); 中青年科研项目(TSA1307)

* 通讯作者 Tel: 86-018719501004; E-mail: lixiaofang1982@163.com

min,扫描紫外吸收光谱;用浓度为 2×10^{-4} mol/L 的 NR 滴定 DNA-配合物体系,混匀放置 5 min,扫描紫外吸收光谱。

荧光光谱:在比色皿中加入 DNA 溶液和 NR 溶液,依次用配合物溶液进行滴定,混匀,放置 5 min,560 ~ 700 nm 范围扫描荧光光谱。设定激发波长为 550 nm,激发和发射狭缝宽度均为 5.0 nm。

粘度测定:固定 DNA 浓度为 0.1 mg/mL,以不同的 $R(C_{\text{配合物}}/C_{\text{DNA}})$ 加入配合物,温度恒定在 25 °C,作用 30 min 进行测量,得到 $(\eta/\eta_0)^{1/3}$ 与配合物浓度关系。 η 为 DNA 溶液在加入配合物时的粘度, η_0 为 DNA 溶液的粘度。

2 结果与讨论

2.1 紫外-可见光谱研究桂皮酸与 La(III) 的相互作用

保持桂皮酸的浓度不变,向其中逐渐滴加 La(III) 溶液,扫描吸收光谱,发现在 279 nm 处的强吸收峰随着 La(III) 的不断加入,吸收峰强度有规律地逐渐增强,峰位有红移,说明桂皮酸与 La(III) 之间发生了相互作用形成配合物。在 279 nm 处测定吸光度,作摩尔比图,如图 1 所示。由摩尔比法计算得到配合物的配合比 $n(\text{La}^{3+})$ 与 $n(\text{桂皮酸}) = 1:2$ 。根据 Beer 定律,计算得配合物的表观摩尔吸光系数 $\varepsilon = 4.9 \times 10^6 \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$ 。

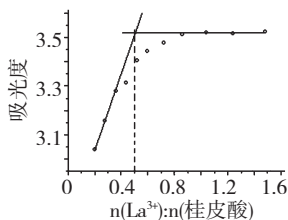


图 1 桂皮酸与 La(III) 的摩尔比

Fig. 1 Molar ratio of cinnamic acid to La(III)

$c(\text{complex}) = 3.84 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$, $c(\text{DNA}) = 1.3 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$ (20 μL per scan)

2.2 紫外光谱研究配合物与 DNA 的作用方式

2.2.1 DNA 对配合物紫外吸收光谱的影响

DNA 对配合物紫外吸收光谱的影响如图 2 所示。配合物在 326 nm 和 278 nm 处有吸收峰,当保持配合物的浓度不变,向其中逐渐滴加 DNA 溶液,发现随着 DNA 的不断加入,配合物的特征吸收峰强度有规律地逐渐降低,并且吸收峰位置发生了明显的红移。减色效应和红移现象的出现,说明了配合

物以嵌入方式与 DNA 发生了相互作用^[7]。

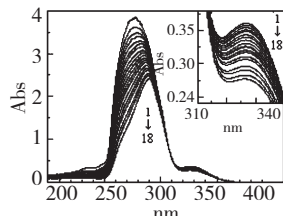


图 2 DNA 对配合物紫外吸收光谱的影响

Fig. 2 Effect of DNA on the UV-Vis absorption spectra of complex

$c(\text{complex}) = 2.3 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$, $c(\text{DNA}) = 1.3 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$ (20 μL per scan, 1 ~ 18:0 ~ 340 μL)

根据双倒数公式^[8]: $1/(A_0 - A) = 1/A_0 + 1/(K \times A_0 \times c_{\text{DNA}})$, 式中 A_0 和 A 分别为加入 DNA 前后配合物的吸光度, K 为结合常数。以 $1/(A_0 - A) \sim 1/c_{\text{DNA}}$ 作图,如图 3a 所示,经计算求得 20 °C 下配合物与 DNA 的结合常数 $K = 4.47 \times 10^3 \text{ L/mol}$ 。根据公式 $\Delta rG_m^\ominus = -RT \ln K$, 计算出 $\Delta rG_m^\ominus = -2.05 \times 10^4 \text{ J/mol}$ 。 $\Delta rG_m^\ominus < 0$, 说明配合物与 DNA 之间的反应能够自发进行^[9]。

固定配合物的浓度,同时逐渐加入 DNA,在 278 nm 处测定吸收强度,根据摩尔比法^[10]作图,可见配合物与 DNA 的结合比 $n(\text{DNA}):n(\text{配合物}) = 1:3$,如图 3b 所示。根据 Beer 定律^[11],计算得配合物-DNA 的表观摩尔吸光系数 $\varepsilon = 3.89 \times 10^6 \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$ 。

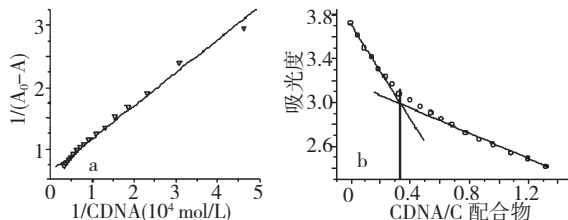


图 3 配合物-DNA 体系的摩尔比图 (a) 和双倒数曲线 (b)

Fig. 3 Molar ratio plot (a) and double reciprocal plot (b) of complex-DNA system

2.2.2 中性红(NR)为探针研究配合物与 DNA 的作用方式

固定配合物-DNA 的浓度,随着 NR 的加入,溶液的吸收光谱发生了较大的变化,体系的特征吸收峰强度均呈减色效应,峰位有明显的红移,同时在 255 nm 和 310 nm 处出现了两个等色点,如图 4 所示。实验已证实 NR 以嵌入作用方式与 DNA 相结合,表明配合物、NR 和 DNA 三者间存在新的共平衡体系, NR 对配合物与 DNA 的作用有竞争抑制作用。

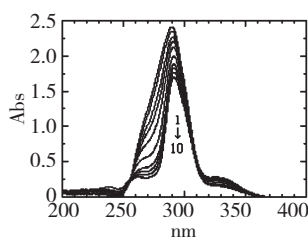


图4 NR对DNA-配合物体系紫外吸收光谱的影响

Fig. 4 Effect of NR on the UV-Vis absorption spectra of DNA-complex system

$c(\text{complex}) = 2.3 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$, $c(\text{DNA}) = 2.43 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$, $C(\text{NR}) = 2 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ (20 μL per scan, 1 ~ 10:0 ~ 180 μL)

2.3 荧光光谱研究与配合物与DNA的作用方式

若固定DNA-NR的浓度,随着配合物的加入,体系在593 nm处特征峰的荧光强度不断减弱,如图5所示,说明配合物与DNA发生嵌插作用,在NR与配合物之间存在竞争作用,导致了荧光强度和最大荧光峰方向的变化^[12]。这是因为配合物将NR分子从DNA分子中挤出来,体系中游离的NR分子数目增多,这一结论与紫外光谱研究结论相一致。

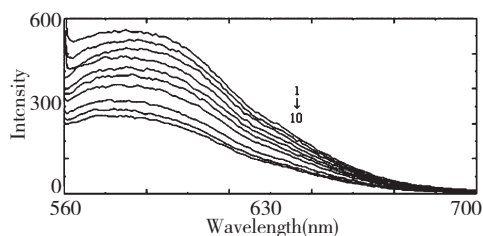


图5 配合物对DNA-NR体系荧光光谱的影响

Fig. 5 Effect of complex on the fluorescence spectra of DNA-NR

1 ~ 10, 配合物浓度 (mol/L): 0, 0.91, 1.81, 2.71, 3.62, 4.52, 5.42, 6.37, 7.24, 8.15

2.4 粘度法

DNA相对比粘度随桂皮酸-La(III)配合物加入量的变化如图6所示。随着桂皮酸-La(III)配合物

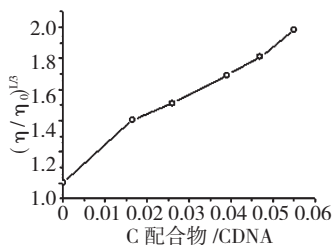


图6 不同浓度桂皮酸-La(III)配合物对DNA粘度的影响

Fig. 6 Effect of different concentrations of complex on DNA viscosity

加入量的增加,DNA溶液的相对比粘度增大,由此推测配合物以经典插入方式与DNA作用^[13],与上述紫外吸收光谱和荧光光谱分析的结果相一致。

3 结论

La(III)与桂皮酸可形成1:2的配合物,该配合物的摩尔吸光系数为 $\epsilon = 4.9 \times 10^6 \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$ 。吸收光谱、荧光光谱和粘度法研究表明配合物与鲱鱼精DNA之间的主要作用模式为插入方式,DNA与配合物的作用摩尔比为1:3,二者的结合常数 $K = 4.47 \times 10^3 \text{ L}/\text{mol}$ 。

参考文献

- Li XH(李晓慧), Wang WD(王卫东), Hu YL(胡远亮), *et al.* Synthesis and bacteriostasis activity of rare earth (La, Ce, Er) with L-leucine acid and 1,10-phenanthroline ternary complexes. *J Chin Soc Rare Earths*(中国稀土学报), 2012, 30:1-6.
- Xia QC(夏庆春), Shen ZH(沈智慧), He QZ(何其庄), *et al.* Synthesis, characterization and biological activity of rare earth complexes with fural salicylhydrazone and molybdc acid. *Acta Chim Sin*(化学学报), 2009, 67:1843-1850.
- Lin MJ(林美娟), Tang Q(唐强), Wang XP(王小萍), *et al.* Synthesis and characterization of 3,3',4,4'-biphenyl tetracarboxylic rare earth complexes with red fluorescence. *Chin J Luminescence*(发光学报), 2012, 33:833-839.
- Tang HA(唐慧安), Wang LF(王流芳). Syntheses, characterization and antitumor activity of Sn complex with Schiff base containing sulfur. *J Lanzhou Univ*(兰州大学学报, 自科版), 2001, 37:121-122.
- Huang W(黄炜), Hu MX(胡梅香). The effects of cinnamic acid on proliferation and nucleolar organizer regions of PGCL3 human lung cancer cell. *Prac J Cancer*(实用癌症杂志), 1997, 12:175-177.
- Zhou J(周晶), Wang JY(王进义), Gong JQ(龚国权), *et al.* Study on the interaction of Quercetin-Cu(II) complex with DNA. *J Lanzhou Univ*(兰州大学学报, 自科版), 2000, 36:131-133.
- Pyle AM, Rehmann JP, Meshoyrer R, *et al.* Mixed-ligand complexes of ruthenium(II): factors governing binding to DNA. *J Am Chem Soc*, 1989, 111:3051-3058.
- Ouameur AA, Marty R, Tajmir-Riahi HA. Human serum albumin complexes with chlorophyll and chlorophyllin. *Biopolymers*, 2005, 77:129-136.