

文章编号: 1673-3851 (2013) 04-0564-05

水杨醛缩环己二胺席夫碱配合物的合成及生物活性

江银枝, 时永强, 张连群
(浙江理工大学理学院, 杭州 310018)

摘要: 以自制的双水杨醛缩(1R,2R)-环己二胺手性席夫碱(H_2L)与 $CuCl_2$ 、 $CoCl_2$ 、 $NiCl_2$ 、 $ZnCl_2$ 的络合反应, 得到了4个配合物 $CoL(1)$ 、 $2NiL(H_2O)(2)$ 、 $CuL(3)$ 、 $ZnL(4)$, 并采用红外光谱、紫外光谱、核磁共振波谱、电导率、元素分析、旋光测定对配体和配合物进行了表征。NBT 实验显示了一些配合物对 $O_2^{\cdot-}$ 的抑制作用; Fenton 实验表明一些配合物对 $\cdot OH$ 的抑制作用; 用荧光波谱研究了配合物与 DNA 的结合作用, 发现配合物与 DNA 均为非典型的插入结合。

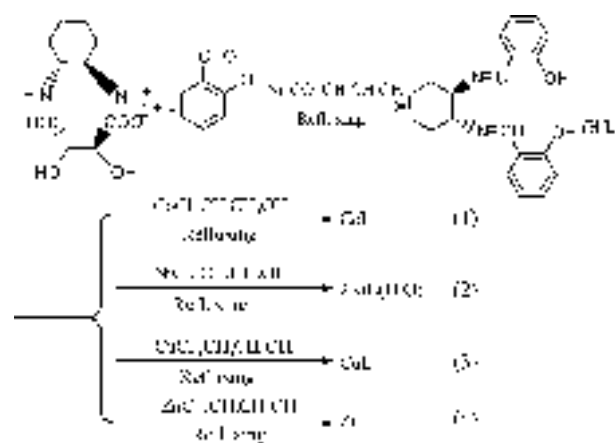
关键词: 手性席夫碱配合物; 晶体结构; 自由基消除; DNA 结合
中图分类号: R914 **文献标志码:** A

0 引言

DNA 是生物体中重要的一类生物大分子, 探索和认识其性质、结构, 揭示生命之奥秘有着重要意义。当前研究金属配合物与生物大分子 DNA 的相互作用已成为生物无机化学领域十分活跃的研究课题, 这对于探讨配合物与生物分子作用模式, 对于在分子和细胞水平上研究一些疾病的起因, 寻找新的药物有着重要意义。金属配合物现已广泛应用于 DNA 的结构探针、DNA 的分子光开关、DNA 足迹试剂以及 DNA 断裂试剂和抗肿瘤药物, Santa^[1], 计亮年^[2-3], 杨频^[4-5]等都做了相当多的探索。以环己二胺为手性源的手性席夫碱配合物, 被广泛应用于烯烃不对称环氧化反应等^[6-9], 但是有关这类手性配合物的生物活性鲜见文献报道。

为了延续本课题组在席夫碱及其配合物方面的合成、结构、生理活性的研究, 本文自制的(R,R)-N,N'-二水杨醛缩 1,2-环己二胺(H_2L)与 $CuCl_2$ 、 $CoCl_2$ 、 $NiCl_2$ 、 $ZnCl_2$ 的络合反应, 得到了配合物 1、2、3、4, 对其进行了表征, 并用 NBT 法研究了这些配合物对 $O_2^{\cdot-}$ 的抑制作用; 用 Fenton 法研究了配合物对 $\cdot OH$ 的抑制作用; 用电子光谱、荧光波谱研

究了配合物与 DNA 的结合作用, 发现了一些有意义的结论。这里报道了配合物的合成、表征与生物活性。



化合物的合成路线

1 实验部分

1.1 原料和设备

所有试剂都是国内购买, 没有进一步纯化; 实验用水为二次蒸馏水; 鲱鱼精 DNA(北京拜尔迪生物技术有限公司); (R,R)-1,2-环己二胺单-L-(+)-酒石酸盐参照文献方法合成^[10]; 缓冲溶液(5 mmol/L

收稿日期: 2012-11-28

基金项目: 国家自然科学基金(20901067); 浙江科技厅钱江人才计划项目 B 类(1106323-E)

作者简介: 江银枝(1973-), 女, 湖北鄂州人, 博士, 副教授, 主要从事有机化学、配位化学、药物化学的研究。

Tris(三羟甲基氨基甲烷)+50 mmol/L NaCl,溶液的 pH=7.4)。

Carlo-Erba 1106 元素分析仪; AVATAR 370 FT-IR 型红外光谱仪; KBr 压片; Bruker AC 400 (400 MHz)核磁共振仪, TMS 为内标, CDCl_3 和氘代 DMSO 是溶剂; VARIAN SATURN 2000 质谱仪; CARY 50 型紫外可见分光光度仪; Ls-55 荧光光谱仪; DDS-11A 型电导率仪, 温度没有校正。

1.2 配体(H_2L)的合成

参考文献[10]方法合成配体 H_2L 。黄绿色固体 15.77 g, 产率: 87%, m. p.: 60~62°C, $[\alpha]_{\text{D}} = -389.2$ ($c=1$, DMF)。IR (KBr pellet, cm^{-1}) ν_{max} : 3 432, 1 630, 1 579, 1 497, 1 450, 1 416, 1 276, 1 199, 1 150, 1 094, 1 044, 979, 938, 843, 782, 755, 737, 693, 662, 617, 586, 547, 489, 466, 435, 431 cm^{-1} ; ^1H NMR (400MHz, DMSO) δ : 13.414 (s, 2H, 2OH), 8.444 (s, 2H, 2CH=N), 7.433-6.847 (m, 8H, ArH), 3.420-3.397 (d, 2H, 2CHN), 1.898-1.430 (m, 8H, 4 环己烷的 CH_2); MS (CI, CH_3OH) m/z : 323 (100%, $[\text{M}+1]^+$)。

1.3 配合物 1、2、3、4 的合成

将配体 H_2L (约 3 mmol) 溶解在 30 mL 乙醇中, 向其中滴加金属盐的水醇溶液 (约 3 mmol 溶解在 25 mL 乙醇+25 mL 水中), 搅拌回流反应 4 h,

趁热过滤, 依次水、乙醇洗涤, 乙醇重结晶, 得配合物 CoL (1), 产率 79%、 $2\text{NiL}(\text{H}_2\text{O})$ (2) 62%、 CuL (3) 68%、 ZnL (4) 64%。

1.4 生物活性的测定

1.4.1 自由基抑制实验

参考文献[10-11]方法, 采用 NBT 法研究了配合物对超阴氧离子自由基 ($\text{O}_2^{\cdot-}$) 的抑制作用, 采用 Fenton 法研究了配合物对羟基自由基 ($\cdot\text{OH}$) 的抑制作用。

1.4.2 与 DNA 结合能力的研究

参考文献[12]方法, 采用荧光光谱和吸收光谱研究了化合物与 DNA 的结合作用。

2 结果与讨论

2.1 基本表征与元素分析

采用元素分析仪对所合成的配合物的 C、H、N 进行元素分析; 样品用 HClO_4 硝解, 利用 EDTA 滴定法进行配合物的金属含量分析; 以 DMF 为溶剂配制成浓度为 10^{-3} mol/L 的溶液, 于室温下, 用电导率仪对化合物的电导率进行了测定; 用旋光仪对化合物的旋光进行了测定。数据见表 1。

表 1 的数据发现元素分析实验值与理论值在误差范围内均符合良好。由摩尔电导率可知配合物 1、2、3、4 是非电解质^[13]。

表 1 配合物的元素分析及摩尔电导

化合物	分子式	摩尔电导率 /($\text{s} \cdot \text{cm}^2/\text{mol}$)	C、H、N、M 元素分析实测值(理论值)			
			C	H	N	M
1	$\text{CoC}_{20}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_2$	17.84	63.24(63.33)	5.48(5.31)	7.27(7.39)	16.03(15.54)
2	$2(\text{NiC}_{20}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_2)(\text{H}_2\text{O})$	1.18	62.22(61.89)	5.34(5.34)	7.39(7.22)	15.59(15.48)
3	$\text{CuC}_{20}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_2$	1.23	62.74(62.57)	5.19(5.25)	7.21(7.30)	16.79(16.55)
4	$\text{ZnC}_{20}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_2$	0.78	62.26(62.25)	5.96(5.23)	7.61(7.26)	16.75(16.95)

2.2 配体及配合物的光谱分析

用 KBr 压片法, 在 400~4 000 cm^{-1} 范围内, 测定了相关配体及配合物的红外光谱; 以 DMSO 为溶

剂, 测定了配体和配合物在紫外区的吸收曲线。谱图归属见表 2。

表 2 配体及配合物的主要红外、紫外吸收光谱数据

化合物	分子式	UV/nm			IR/ cm^{-1}				
		K	B	R	$\nu_{\text{O-H}}$	$\nu_{\text{C=N}}$	$\nu_{\text{Ph-O}}$	$\nu_{\text{M=N}}$	$\nu_{\text{M-O}}$
H_2L	$\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_2$	223	256	325	3 421	1 630	1 276	—	—
1	$\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_2\text{Co}$	218	253	388	—	1 603	1 319	443	466
2	$2(\text{NiC}_{20}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_2)(\text{H}_2\text{O})$	218	253	333	3 430	1 618	1 325	447	468
3	$\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_2\text{Cu}$	217	269	362	—	1 629	1 323	415	461
4	$\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_2\text{Zn}$	226	269	347	—	1 634	1 317	411	454

从表 2 中的配体和配合物的红外吸收峰发现配合物在低频区存在 $\nu_{\text{M-N}}$ 和 $\nu_{\text{M-O}}$ 的吸收峰; 配合物中的 $\nu_{\text{C=N}}$ 峰相对于配体的 $\nu_{\text{C=N}}$ 峰发生了一定程度的

红移或紫移; 配合物中的 $\nu_{\text{ph-o}}$ 吸收峰与配体的 $\nu_{\text{ph-o}}$ 吸收峰相比紫移了 14~55 cm^{-1} , 说明了配体中亚胺 N 原子和酚羟基的 O 原子参与了配位。

从表2中配体和配合物的紫外吸收数据发现配合物1、2、3、4相对于配体的B带、K带、R带均发生了一定程度的红移或紫移,进一步说明了配体中亚胺N原子和酚羟基的O原子参与了配位。

表3 配体的¹H-NMR数据

化合物	¹ H-NMR谱中各峰的归属(δ)/10 ⁻⁶				
H ₂ L	13.414 (2H,2OH)	8.576 (2H,2CH=N)	7.433~6.847 (8H,8ArH)	3.420~3.397 (2H,2CHN)	1.898~1.430 (8H,4CH ₂ of 环己烷)
2	—	7.712 (2H,2CH=N)	7.375~6.484 (8H,8ArH)	3.120 (2H,2CHN)	2.499~1.265 (8H,4CH ₂ of 环己烷)
4	—	8.325 (2H,2CH=N)	7.224~6.395 (8H,8ArH)	3.185 (2H,2CHN)	2.442~1.904 (8H,4CH ₂ of 环己烷)

表3中的数据发现,在形成配合物以后,配体酚羟基质子峰消失,说明配体中的两个酚羟基均以酚氧负离子参与配位;CH=N中质子、苯环质子、CH=N中的质子信号均向高场移动,环己烷中4个CH₂质子信号均向低场移动,说明亚胺基上的2个N原子参与了配位。因此在形成金属配合物时,配体的2个氧原子和2个氮原子均参与了配位,是一个4齿配体,进一步证实了红外光谱和紫外光谱的分析。

2.4 自由基清除实验

图1、图2分别给出了配体及配合物对羟基自由基和超氧阴离子自由基清除实验数据。

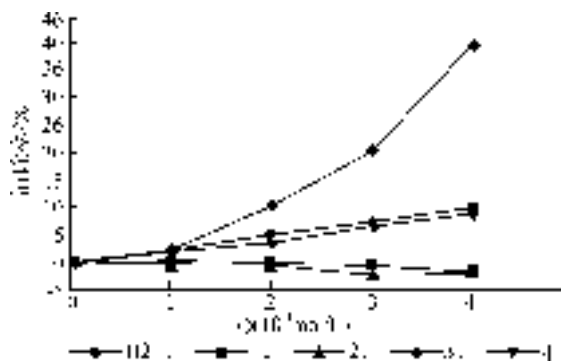


图1 配体及配合物对羟基自由基的降解实验数据

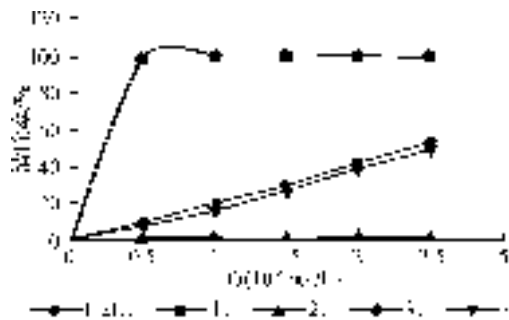


图2 配体及配合物对O₂^{·-}清除实验数据

从图1发现,1、2对羟基自由基有清除作用,3、4对羟自由基无清除作用。认为配合物对羟基自由

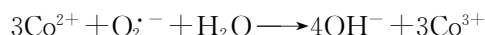
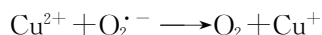
2.3 配体及配合物的核磁共振氢谱分析

以氘代DMSO为溶剂,进行了化合物H₂L、2、4的¹H-NMR谱图采集,化合物H₂L、2、4的峰的归属结果见表3。

基的清除作用依赖于中心离子的外层电子结构和其化学价态。Co²⁺(d⁷)、Ni²⁺(d⁸)为低价态,对Fenton反应有促进作用,其促进机理如下:



从图2可以发现,1、3对超氧阴离子自由基具有较好的抑制作用;2、4对超氧阴离子自由基的清除活性较弱。由此结果可以推测配合物对超氧阴离子自由基的抑制活性与中心离子在配位场下d-d轨道的分裂有关。Cu²⁺(d⁹)、Co²⁺(d⁷)等d轨道有单电子,比较容易受外来因素(电子、自由基等)的影响,其可能机理为:



Ni²⁺(d⁸), Zn²⁺(d¹⁰)等d轨道没有成单电子,而且Zn²⁺(d¹⁰)是全充满(d¹⁰)的结构,比较不容易受外来因素的影响。所以Cu、Co配合物容易受超氧自由基的攻击,对超氧自由基的清除能力就较好;而Zn、Ni配合物不容易受超氧自由基的影响,对超氧自由基的清除能力就较差。而目前学术界一般认为,肿瘤细胞很多时候是由于自由基过剩产生的^[14],这也暗示着以此类化合物对抗肿瘤药物的研究具有一定的意义。

2.5 DNA结合作用的研究

溴化乙锭(EB)是一种荧光试剂,它本身的荧光强度较弱,但由于它可以插入到DNA双链的碱基对中,而使荧光强度显著增强,因此被广泛应用于抗癌药物的筛选和小分子与DNA作用的研究^[15]。如果小分子化合物与DNA发生类似的插入作用,在EB-DNA溶液中加入小分子化合物将与EB竞争在DNA结合点,使部分EB游离出来,从而使体系的荧光强度减弱。因此,通过体系的荧光光谱的变化

程度可以初步判断配合物与 DNA 是否发生了类似 EB 的插入作用,据此有可能对其是否具有抗肿瘤活性进行判别,从而实现药物初步筛选的目的^[16]。图 3 给出了所合成的配合物与 DNA 相互作用的荧光数据。

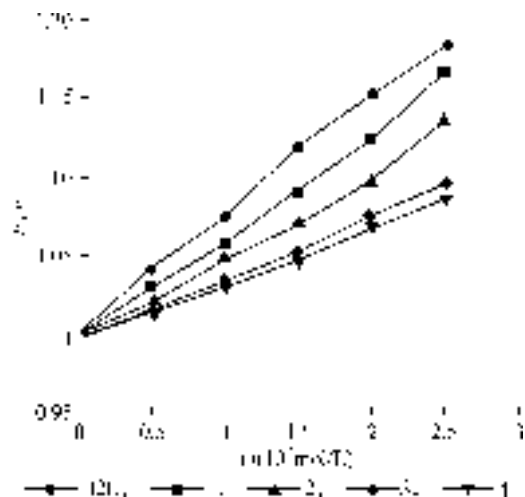


图 3 1×10^{-5} mol/L 配合物在 EB-DNA 体系中的发射光谱数据

从图 3 可以看出,1、2、3、4 可以取代了与 DNA 结合的 EB,使荧光强度下降,由此可推测化合物 1、2、3、4 与 EB 可能在一位点与 DNA 的双螺旋结构结合,说明 1、2、3、4 与 DNA 之间发生了类似于 EB 的插入结合。由图 3 得出 Co 配合物、Ni 配合物、Cu 配合物、Zn 配合物与 DNA 的结合常数 K 分别是 $7.52 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ 、 $6.35 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ 、 $5.12 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ 、 $3.72 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ 、 $3.35 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$,均低于文献报道的典型的插入结合剂与 DNA 的结合常数^[17](如溴化乙锭和 $[\text{Ru}(\text{phen})_2 - (\text{dppz})]^{2+}$,结合常数在 $10^5 - 10^7 \text{ M}^{-1}$ 之间),说明了这类化合物与 DNA 的相互作用不是典型的插入作用。从图 3 和结合常数 k 可以发现,同一配体的不同过渡金属配合物与 DNA 的结合能力不同,这可能与中心离子与配体的配位构型有关。

3 结论

本文合成了配体 H_2L 及其配合物 1、2、3、4,对它们进行了组成结构表征,发现配体提供 4 个配位原子与中心离子组成一个平面四边形;研究了配合物的抗氧化性能,发现其中一些配合物对羟基自由基和超氧阴离子自由基有一定的清除作用,其清除能力与配位中心离子的价态、外层电子及配位形式有关。并研究了配合物与 DNA 的结合作用,发现配合物与 DNA 的作用表现为非典型的插入结合,

插入作用的强弱与配位中心离子的价态、外层电子及配位形式有关。

参考文献:

- [1] Shanta D, Munirathinam N, Akhil R C. Synthesis, crystal structure and photo-induced DNA cleavage activity of ternary copper(II) complexes of NSO-donor Schiff bases and NN-donor heterocyclic ligands[J]. Inorganic Chim Acta, 2005, 358(6): 2437-2444.
- [2] 计亮年, 张黔玲. 多吡啶配合物在大分子 DNA 中的功能及其应用前景[J]. 科学通报, 2001, 46(2): 451-455.
- [3] 汪中明, 计亮年. 钌配合物的抗肿瘤活性研究进展[J]. 化学进展, 2002, 14(1): 296-300.
- [4] 杨 频, 宋宇飞. 金属配合物键合 DNA 的研究进展[J]. 化学进展, 2000, 12(1): 32-37.
- [5] 宋宇飞, 杨 频. 对 DNA 具有识别和断裂功能的金属插入剂的研究[J]. 化学进展, 2001, 13(2): 368-373.
- [6] Yao X Q, Chen H L, Lu W R, et al. Enantioselective epoxidation of olefins catalyzed by two novel chiral polysalen-Mn(III) complexes[J]. Tetrahedron Lett, 2000, 41(10): 10267-10271.
- [7] Yuri N B, Susana C C, Brendan G, et al. The asymmetric addition of trimethylsilyl cyanide to aldehydes catalyzed by chiral (salen) titanium complexes[J]. J Am Chem Soc, 1999, 121(16): 3968-3973.
- [8] Larrow J F, Jacobsen E N, Gao Y, et al. A practical process for the large-scale preparation of (R, R)-N, N'-bis(3, 5-di-tert-butyl-salicylidene)-1, 2-cyclohexanedi-aminomanganese(III) chloride, a highly enantioselective epoxidation catalyst[J]. J Org Chem, 1994, 59(6): 1939-1940.
- [9] 刘永红, 刘晓岚, 袁冬梅, 等. 手性席夫碱及其金属配合物作为手性催化剂的某些应用[J]. 有机化学, 2005, 25(4): 893-901.
- [10] 江银枝, 陈德余, 陈伟国. 邻香草醛谷氨酸铜、锌配合物的合成、波谱及抗性能[J]. 化学研究与应用, 1999, 11(4): 402-405.
- [11] 周 玫, 陈 媛. 肿瘤坏死因子与活性氧和活性氮[J]. 生命的化学, 1994, 14(1): 29-31.
- [12] Jenkins T C. Drug-DNA Interaction Protocols [J]. Methods in Molecular Biology, 1997, 90(1): 205-207.
- [13] Geary W J. The use of conductivity measurements in organic solvents for the characterization of coordination compounds[J]. Coord Chem Rev, 1971, 7: 81-122.
- [14] 许小波. 脂质过氧化与肿瘤形成[J]. 生命的化学, 1995, 15(6): 42-43.
- [15] Lakowicz J R, Webber G. Quenching of fluorescence by oxygen. Probe for structural fluctuations in macro-

- molecules[J]. *Biochemistry*, 1973, 12(10): 4161-4170.
- [16] Wolf A, Shimer G H, Meehan T. Polycyclic aromatic hydrocarbons physically intercalate into duplex regions of denatured DNA[J]. *Biochemistry*, 1987, 26(20): 6392-6397.
- [17] Baguley B C, Lebreton M. Quenching of DNA-ethidium fluorescence by amsacrine and other antitumor agents: a possible electron-transfer[J]. *Biochemistry*, 1984, 23(4): 937-943.

Synthesis and Biological Activity of Salicylaldehyde Cyclohexanediamine Schiff Base Complex

JIANG Yir-zhi, SHI Yong-qiang, ZHANG Lian-qun

(School of Sciences, Zhejiang Sci-Tech University, Hangzhou 310018, China)

Abstract: This paper obtains four complexes $\text{CoL}(1)$, $2\text{NiL}(\text{H}_2\text{O})(2)$, $\text{CuL}(3)$ and $\text{ZnL}(4)$ with the complex reaction of self-made double salicylaldehyde(1R, 2R)-cyclohexanediamine Schiff base(H_2L) and CuCl_2 , CoCl_2 , NiCl_2 and ZnCl_2 and characterizes the ligand and complex with infrared spectroscopy, ultraviolet spectrum, nuclear magnetic resonance spectrum, conductivity, elemental analysis and polarimetry. NBT experiment shows the inhibiting effect of some complexes on $\text{O}_2^{\cdot -}$; Fenton experiment shows the inhibiting effect of some complexes on $\cdot\text{OH}$. This paper studies the combination of complex and DNA with fluorescent spectrum and finds that complex and DNA are both atypical intercalative interaction.

Key words: chiral Schiff base complex; crystal structure; free radical elimination; DNA combination

(责任编辑: 许惠儿)