

水溶性不对称卟啉及其金属配合物合成及与 DNA 的作用

韩高义^{a,b} 杨 频^{b*}

(^a 南京大学化学系 配位化学国家重点实验室 南京 210093)

(^b 山西大学分子科学研究所 太原 030006)

摘要 合成并表征了以三(4-*N*-甲基吡啶基)卟啉为母体,带有乙氧羰基甲氧基或羧基甲氧基侧链的水溶正电性卟啉及其金属配合物(M = Cu, Ni),并研究了它们与 DNA 的相互作用.卟啉对 EB-DNA 荧光猝灭研究表明:卟啉与 DNA 作用存在单一结合模式. EB 荧光竞争法测得它们与 DNA 作用的结合常数介于 $3 \times 10^5 \sim 3 \times 10^6 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$. 电子吸收研究谱表明:DNA 引起卟啉 Soret 带的不同程度的红移($\leq 9 \text{ nm}$)和减色($\leq 35\%$). 卟啉及其金属配合物都引起 DNA 的熔点升高($\leq 2.5^\circ\text{C}$)和 DNA 粘度的略微下降. 所有这些研究表明:这些带较长侧链的水溶性卟啉及其金属配合物与 DNA 作用不存在插入作用模式,只是在 DNA 的外部结合.

关键词 卟啉配合物, DNA, 相互作用

The Synthesis of Water – soluble Asymmetric Porphyrins, Their Metal Complexes and Their Interaction with CT DNA

HAN Gao – Yi^{a,b} YANG Ping^{b*}

(^a Institute of Coordination Chemistry State Key Laboratory of Nanjing University, Nanjing, 210093)

(^b Institute of Molecule Science Research Shanxi University, Taiyuan, 030006)

Abstract (Ethoxycarbonyl)methoxy – or carboxylmethoxy – tris(methylpyridinyl)porphyrins and their metal complexes have been synthesized and characterized. All of them were sufficiently water – soluble for DNA binding studies. Their apparent affinity binding constant for CT DNA varied from 3×10^5 to $3 \times 10^6 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$ as measured by competition with EB. The porphyrins as well as their Cu(II) and Ni(II) derivatives decrease the viscosity of CT DNA slightly and increase the melting point of DNA by only up to 2.5°C at DNA base pair/ligand ratios of 60. The fact that DNA causes a red shift($\leq 9 \text{ nm}$) and weak hypochromic effect($\leq 35\%$) on the Soret band of porphyrins shows that all these porphyrins interact with DNA without intercalation.

Keyword porphyrin, CT DNA, interaction

自从 1924 年 Policard 发现血卟啉在癌组织中富集以来,卟啉作为癌症的诊断剂已进行了广泛的

研究^[1,2]. 由于带正电荷性的卟啉作为潜在的抗癌和抗菌药物,它们的金属配合可作为 DNA 的选择性

* E – mail: yangpin@sxu.edu.cn

收稿日期:2000-09-26, 修回日期:2000-12-31, 定稿日期:2001-02-20, 国家自然科学基金(29871020)以及山西省自然科学基金资助项目

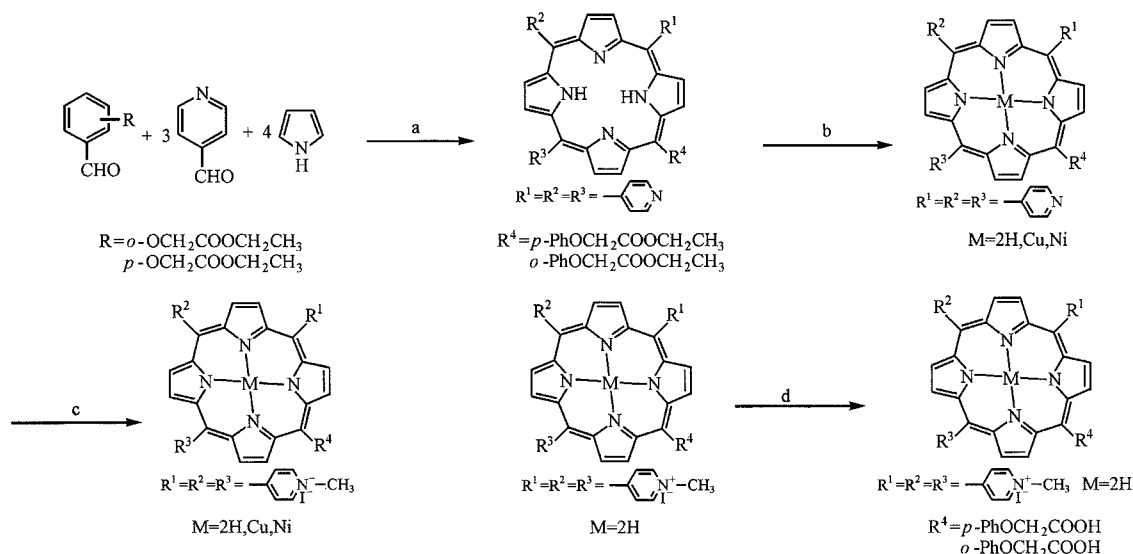
(Received September 26, 2000. Revised December 31, 2000. Accepted February 20, 2001)

切割试剂.因此,正电荷性的水溶性卟啉与 DNA 的作用研究,已引起人们极大兴趣.当这种水溶性卟啉与其它一些 DNA 插入剂或药物如:嘧啶和嘌呤类药物^[3]或 9-methoxyellipticine 相连时^[4],具有良好的抗癌和抗 HIV 活性.1997 年 Mirisola 等人合成了四(4-羧基苯基)卟啉有机锡酯衍生物^[5],发现它们在生物活体中具有较好的抗肿瘤活性.我们合成了新型侧链带酯基的不对称水溶性卟啉,其酯基水解后,可连接金属抗癌剂.为了解这类化合物的抗癌机理,同时研究了它们和 DNA 的相互作用.

1 实验

1.1 仪器与试剂

Hewlett Packard - 8453E 型二极管矩阵式 UV - vis 光谱仪;PE - LS 50B 型荧光光谱仪,Bruker - DRX 300 型核磁共振仪,Shimadzu FTIR 8000 型红外光谱仪,PE - 2000 型元素分析仪,乌贝路德粘度计,4-吡啶甲醛,吡咯购自 Fluka 公司,小牛胸腺 DNA 购自华美公司,吡咯用前重蒸,其余试剂均为分析纯.合成路线及合成化合物如下所示:



图式 1 合成路线及化合物

Scheme 1 Synthetic route and compounds

(a) propionic acid reflux 2.5 h; (b) DMF/MAc₂ M = Cu, Ni; (c) MeI/CHCl₃ 48 h; (d) 6 mol·L⁻¹ HCl

1.2 配体合成

o-, *p*-乙氧羰基甲氧基苯甲醛按文献方法^[6]以相应的羟基苯甲醛与溴乙酸乙酯反应得到,产物未经进一步提纯直接进行下一步反应.相应的乙氧羰基甲氧基苯甲醛,4-吡啶甲醛,吡咯按 1:3:4(摩尔比)^[7]在丙酸中回流反应 2.5 h.减压蒸除溶剂,用氨水中和,反应物溶于氯仿,用硅胶柱提纯,氯仿/甲醇淋洗,收集产品溶液、浓缩、加石油醚沉淀,甲醇洗涤 3 次.产品烘干后溶于氯仿,再用硅胶柱提纯,产物真空 50℃干燥.

[5-对(乙氧羰基甲氧基)-10,15,20-(4-吡啶基)]卟啉(*p*-triPyPPE)产率(2%) Anal. Calcd for C₄₅H₃₃N₇O₃: C 75.10, H 4.58, N 13.62; found C 74.74, H 4.56, N 13.12. ¹H NMR (CDCl₃, 300MHz) δ: 9.05 (d, 6H, 2, 6-pyridine), 9.01 (d, 2H, β-pyrrole), 8.95 (m, 6H, β-pyrrole), 8.17 (d, 6H, 3, 5-pyridine), 8.12 (d, 2H, 2, 6-phenyl), 7.33 (d, 2H, 3, 5-

-phenyl), 4.94 (s, 2H, OCH₂), 4.44 (q, 2H, COOCH₂), 1.26 (t, 3H, CH₃), -2.92 (s, 2H, NH pyrrole) ν_{max}: 3318 cm⁻¹ (m, NH-pyrrole), 1756 cm⁻¹ (m, C=O).

[5-邻(乙氧羰基甲氧基)-10,15,20-(4-吡啶基)]卟啉(*o*-triPyPPE)产率(1.8%) Anal. Calcd for C₄₅H₃₃N₇O₃: C 75.10, H 4.58, N 13.62; found C 74.68, H 4.58, N 13.23. ¹H NMR (CDCl₃, 300MHz) δ: 9.09 (s, 6H, 2, 6-pyridine), 9.01 (s, 2H, β-pyrrole), 8.87 (d, 6H, β-pyrrole), 8.24 (d, 6H, 3, 5-pyridine), 8.02 (d, 1H, 6-phenyl), 7.81 (m, 1H, 5-phenyl), 7.44 (m, 1H, 4-phenyl), 7.23 (d, 1H, 3-phenyl), 4.56 (s, 2H, OCH₂), 4.23 (q, 2H, COOCH₂), 1.24 (t, 3H, CH₃), -2.78 (s, 2H, NH-pyrrole) ν_{max}: 3317 cm⁻¹ (m, NH-pyrrole), 1756 cm⁻¹ (m, C=O).

1.3 金属配合物的合成

金属卟啉的合成按通用方法^[6]合成,在 DMF 溶液中,相应的金属醋酸盐与卟啉在 80℃反应,紫外

检测,直到反应完全(Cu 3h, Ni 12h),反应完全后,体系中加水,用氯仿提取、水洗、干燥、浓缩后在硅胶柱色谱提纯,以 $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}$ 为淋洗剂,收集主色带,减压浓缩,加入石油醚沉淀,收集产品,真空干燥。

[5-对(乙氧羰基甲氧苯基)-10,15,20-(4-吡啶基)]卟啉镍(*p*-triPyNi)产率(80%) Anal. Calcd for $\text{C}_{45}\text{H}_{31}\text{N}_7\text{O}_3\text{Ni}$: C 69.68, H 4.00, N 12.64; found C 69.29, H 3.89, N 12.29. $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300MHz) δ : 9.01 (s, 6H, 2,6-pyridine), 8.87 (d, 2H, β -pyrrole), 8.73 (s, 4H, β -pyrrole), 8.70 (d, 2H, β -pyrrole), 8.04 (d, 6H, 3,5-pyridine), 7.93 (d, 2H, 2,6-phenyl), 7.24 (d, 2H, 3,5-phenyl), 4.88 (s, 2H, OCH_2), 4.40 (q, 2H, COOCH_2), 1.42 (t, 3H, CH_3). ν_{max} : 1755 cm^{-1} (m, C=O).

[5-邻(乙氧羰基甲氧苯基)-10,15,20-(4-吡啶基)]卟啉镍(*o*-triPyNi)产率(80%) Anal. Calcd for $\text{C}_{45}\text{H}_{31}\text{N}_7\text{O}_3\text{Ni}$: C 69.68, H 4.00, N 12.64; found C 69.29, H 3.89, N 12.29. $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300MHz) δ : 9.04 (d, 6H, 2,6-pyridine), 8.97 (d, 2H, β -pyrrole), 8.81 (s, 4H, β -pyrrole), 8.76 (d, 2H, β -pyrrole), 8.14 (d, 6H, 3,5-pyridine), 7.97 (m, 2H, 5,6-phenyl), 7.33 (m, 1H, 4-phenyl), 7.20 (d, 1H, 3-phenyl), 4.46 (s, 2H, OCH_2), 4.13 (q, 2H, COOCH_2), 1.24 (t, 3H, CH_3) ν_{max} : 1756 cm^{-1} (m, C=O).

[5-对(乙氧羰基甲氧苯基)-10,15,20-(4-吡啶基)]卟啉铜(*p*-triPyCu)产率(93%) Anal. Calcd for $\text{C}_{45}\text{H}_{31}\text{N}_7\text{O}_3\text{Cu}$: C 69.14, H 3.97, N 12.55; found C 68.82, H 3.84, N 12.22. ν_{max} : 1756 cm^{-1} (m, C=O).

[5-邻(乙氧羰基甲氧苯基)-10,15,20-(4-吡啶基)]卟啉铜(*o*-triPyCu)产率(90%) Anal. Calcd for $\text{C}_{45}\text{H}_{31}\text{N}_7\text{O}_3\text{Cu}$: C 69.14, H 3.97, N 12.55; found C 68.77, H 3.79, N 12.28. ν_{max} : 1755 cm^{-1} (m, C=O).

1.4 水溶性卟啉的合成

卟啉或卟啉的金属配合物溶于氯仿中,加入过量的碘甲烷^[8],室温反应 48 h,抽滤,真空干燥,得水溶性卟啉化合物。

[5-对(乙氧羰基甲氧苯基)-10,15,20-(4-*N*-甲基吡啶基)]卟啉(*p*-TMPyP)产率(95%)。 Anal. Calcd for $\text{C}_{48}\text{H}_{42}\text{N}_7\text{O}_3\text{I}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$: C 48.04, H 4.00, N 8.17; found C 47.62, H 3.89, N 7.96. $^1\text{H NMR}$

($\text{DMSO}-d_6$, 300MHz) δ : 9.49 (d, 6H, 2,6-pyridine), 9.22~9.01 (b, 14H, β -pyrrole + 3,5-pyridine), 8.20 (d, 2H, 2,6-phenyl), 7.46 (d, 2H, 3,5-phenyl), 5.04 (s, 2H, OCH_2), 4.74 (s, 9H, $\text{N}^+ - \text{Me}$), 4.34 (q, 2H, COOCH_2), 1.33 (t, 3H, CH_3), -2.99 (s, 2H, NH-pyrrole). λ_{max} (H_2O): 424 (log ϵ 5.4), 521 (3.2), 560 (2.9), 645 (2.7) nm. ν_{max} : 3317 cm^{-1} (m, NH-pyrrole), 1756 cm^{-1} (m, C=O).

[5-邻(乙氧羰基甲氧苯基)-10,15,20-(4-*N*-甲基吡啶基)]卟啉(*o*-TMPyP)产率(91%)。 Anal. Calcd for $\text{C}_{48}\text{H}_{42}\text{N}_7\text{O}_3\text{I}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$: C 48.04, H 4.00, N 8.17; found C 47.58, H 3.92, N 7.97. $^1\text{H NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$, 300MHz) δ : 9.44 (d, 6H, 2,6-pyridine), 8.96 (b, 14H, β -pyrrole + 3,5-pyridine), 7.79 (m, 2H, 5,6-phenyl), 7.34 (m, 1H, 4-phenyl), 7.23 (d, 1H, 3-phenyl), 4.69 (s, 11H, $\text{N}^+ - \text{Me} + \text{OCH}_2$), 4.24 (q, 2H, COOCH_2), 1.26 (t, 3H, CH_3), -2.86 (s, 2H, NH-pyrrole). λ_{max} (H_2O): 423 (log ϵ 5.4), 519 (3.2), 557 (2.7), 585 (2.8), 645 (2.5) nm. ν_{max} : 3315 cm^{-1} (m, NH-pyrrole), 1755 cm^{-1} (m, C=O).

[5-对(乙氧羰基甲氧苯基)-10,15,20-(4-*N*-甲基吡啶基)]卟啉镍(*p*-TMPyPNi)产率(89%)。 Anal. Calcd for $\text{C}_{48}\text{H}_{40}\text{N}_7\text{O}_3\text{NiI}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$: C 45.90, H 3.66, N 7.81; found C 45.56, H 3.60, N 7.72. $^1\text{H NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$, 300MHz) δ : 10.54~10.22 (b, 8H, β -pyrrole), 9.47 (s, 6H, 2,6-pyridine), 8.91 (s, 6H, 3,5-pyridine), 8.05 (d, 2H, 2,6-phenyl), 7.43 (d, 2H, 3,5-phenyl), 5.05 (s, 2H, OCH_2), 4.75 (s, 9H, $\text{N}^+ - \text{Me}$), 4.54 (q, 2H, COOCH_2), 1.27 (t, 3H, CH_3) λ_{max} (H_2O): 420 (log ϵ 5.2), 533 (3.3) nm, ν_{max} : 1755 cm^{-1} (m, C=O).

[5-邻(乙氧羰基甲氧苯基)-10,15,20-(4-*N*-甲基吡啶基)]卟啉镍(*o*-TMPyPNi)产率(92%)。 Anal. Calcd for $\text{C}_{48}\text{H}_{40}\text{N}_7\text{O}_3\text{NiI}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$: C 45.90, H 3.66, N 7.81; found C 45.61, H 3.59, N 7.69. $^1\text{H NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$, 300MHz) δ : 10.24~10.12 (b, 8H, β -pyrrole), 9.39 (s, 6H, 2,6-pyridine), 8.83 (s, 6H, 3,5-pyridine), 7.75 (m, 2H, 5,6-phenyl), 7.37 (m, 2H, 3,4-phenyl), 4.65 (s, 11H, $\text{N}^+ - \text{Me} + \text{OCH}_2$), 4.24 (q, 2H, COOCH_2), 1.27 (t, 3H, CH_3). λ_{max} (H_2O): 418 (log ϵ 5.3), 533 (3.3) nm, ν_{max} : 1754 cm^{-1} (m, C=O).

[5-对(乙氧羰基甲氧苯基)-10,15,20-(4-*N*-甲基吡啶基)]卟啉铜(*p*-TMPyPCu)产率

(90%). Anal. Calcd for $C_{48}H_{40}N_7O_3CuI_3 \cdot 3H_2O$: C 45.68, H 3.65, N 7.77; found C 45.35, H 3.62, N 7.67. $\lambda_{max}(H_2O)$: 423 (log ϵ 5.3), 548 (3.3) nm. ν_{max} : 1756 cm^{-1} (m, C=O).

[5-邻(乙氧羰基甲氧苯基)-10,15,20-(4-N-甲基吡啶基)]卟啉铜(*o*-TMPyPCu)产率(92%). Anal. Calcd for $C_{48}H_{40}N_7O_3CuI_3 \cdot 3H_2O$: C 45.68, H 3.65, N 7.77; found C 45.27, H 3.54, N 7.71. $\lambda_{max}(H_2O)$: 423 (log ϵ 5.3), 547 (3.4) nm. ν_{max} : 1754 cm^{-1} (m, C=O).

1.5 按文献[7b]方法进行酯基水解

[5-对(羧基甲氧苯基)-10,15,20-(4-N-甲基吡啶基)]卟啉(*p*-TMPyPC)产率(90%). Anal. Calcd for $C_{46}H_{38}N_7O_3I_3 \cdot 4H_2O$: C 46.42, H 3.87, N 8.24; found C 46.02, H 3.73, N 8.14. 1H NMR (DMSO- d_6 , 300MHz) δ : 9.51 (d, 6H, 2,6-pyridine), 9.22~9.01 (b, 14H, β -pyrrole + 3,5-pyridine), 8.20 (d, 2H, 2,6-phenyl), 7.46 (d, 2H, 3,5-phenyl), 5.05 (s, 2H, OCH₂), 4.74 (s, 9H, N⁺-Me), -3.00 (s, 2H, NH-pyrrole). $\lambda_{max}(H_2O)$: 425 (log ϵ 5.4), 522 (3.2), 560 (2.9), 585 (2.9), 645 (2.7) nm. ν_{max} : 3316 cm^{-1} (w, NH-pyrrole), 1733 cm^{-1} (m, C=O).

[5-邻(羧基甲氧苯基)-10,15,20-(4-N-甲基吡啶基)]卟啉(*o*-TMPyPC)产率(91%). Anal. Calcd for $C_{46}H_{38}N_7O_3I_3 \cdot 4H_2O$: C 46.42, H 3.87, N 8.24; found C 46.13, H 3.80, N 8.16. 1H NMR (DMSO- d_6 , 300MHz) δ : 9.46 (d, 6H, 2,6-pyridine), 8.96 (b, 14H, β -pyrrole + 3,5-pyridine), 7.91 (m, 2H, 5,6-phenyl), 7.35 (m, 2H, 3,4-phenyl), 4.66 (s, 11 H, N⁺-Me + OCH₂), -2.90 (s, 2H, NH-pyrrole) $\lambda_{max}(H_2O)$: 423 (log ϵ 5.5), 520 (3.3), 585 (3.0), 645 (2.7) nm. ν_{max} : 3315 cm^{-1} (w, NH-pyrrole), 1733 cm^{-1} (m, C=O).

四(4-N-正丙基吡啶基)卟啉(TPPyP)按文献[9]合成和表征.

1.6 研究方法

EB-DNA 荧光猝灭研究: 在一系列的含有约 $2.1 \times 10^{-6} mol \cdot L^{-1}$ EB 的 $3.4 \times 10^{-5} mol \cdot L^{-1}$ 的 DNA 溶液中, 加入不同浓度的卟啉, 反应 30 min 后, 测其荧光光谱. 在 $3.3 \times 10^{-4} mol \cdot L^{-1}$ 的 DNA 溶液中, 加入不同浓度的卟啉, 反应 30 min 后, 用乌贝路德粘度计测其相对粘度, 每个浓度下测量 5 次, 舍去最大最小值, 求得平均值. 热变性研究: 在 DNA 熔点附近, 每升温 1 $^{\circ}C$ 测一次 A_{260} 值, 每个温度恒温 2

min, 作图法求熔点.

2 结果与讨论

2.1 卟啉对 EB-DNA 荧光猝灭方式的判断

溴化乙锭(EB)作为一个具有芳香平面型的分子, 能平行地插入 DNA 的双股螺旋内部碱基对之间, 形成堆积. EB 本身具有较弱的荧光, 当插入 DNA 后其荧光显著增强. 如果 EB 从 DNA 中游离出来或 DNA 双螺旋减少时, 荧光显著降低. 利用 EB 的这一特点, 可用 EB 荧光探针法研究 DNA 的结构. 在一系列的 EB-DNA 溶液中加入不同浓度的卟啉, 以荧光强度 F_0/F 对卟啉浓度作图, 见图 1. 根据经典的荧光猝灭理论^[13] 无论静态猝灭或动态猝灭, F_0/F 对猝灭剂浓度作图均得直线. 我们所得猝灭曲线符合经典猝灭理论, 因带正电荷的卟啉对 EB 荧光不产生猝灭^[8]. 据此, 我们认为, 本文报道的卟啉与 DNA 只存在单一作用模式.

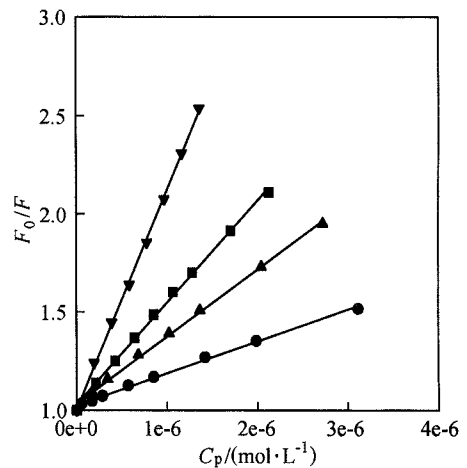


图 1 不同浓度的卟啉对 EB-DNA 荧光猝灭 (F_0/F vs C_p)

Fig. 1 Fluorescence quenching of EB-DNA by different concentration porphyrin (F_0/F vs C_p)

●—*o*-TMPyPc, ▲—*p*-TMPyPc,
■—*o*-TMPyP, ▼—*p*-TMPyP

2.2 电子吸收谱研究

所有的电子吸收谱在 pH = 7.4 的 Tris-HCl 的缓冲溶液内 ($[DNA \text{ 碱基对}]/[卟啉] = 60$), 用 HP-8453A 型 UV-vis 仪测试. 卟啉及其金属配合物与 DNA 作用后其 Soret 带都有不同程度的红移和减色, 见表 1. 这是因为带正电的卟啉通过静电与 DNA 的磷氧根作用, 进而与 DNA 的碱基发生范德华作用, 引起卟啉环系的 π 电子跃迁变化之故. 由于卟啉环

侧链在苯基上的取代位置的位阻效应不同,位阻越大,与 DNA 作用就越弱.所以,对位取代的红移及减色要比邻位取代的红移及减色明显.

2.3 平衡常数研究

虽然许多研究者^[11,12]对四(4-N-甲基吡啶基)卟啉(TMP4),四(3-N-甲基吡啶基)卟啉(TMP3)与 CT DNA 的表观结合常数的测定采用了紫外-可见光谱法.但用吸收谱测定有局限性,而利用 EB 与研究物分别与 DNA 的竞争结合,测量 EB 的荧光强度变化求得研究物与 DNA 的表观结合常数的方法^[8,10]几乎适用于所有无论是以插入模式或非插入模式与 DNA 作用的物质.因此,我们采用该法测定卟啉与 DNA 的表观结合常数,表 1 结果表明,其结合常数介于 $3 \times 10^5 \sim 3 \times 10^6 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$ 之间,这和其

他作者测得的类似卟啉与 DNA 的结合常数相似,并且对位取代的卟啉结合常数比邻位取代的卟啉的要大,约是邻位取代卟啉的 2 倍.与电子吸收谱研究结果相对应.

2.4 DNA 的热变性研究及粘度研究

熔点和粘度是 DNA 的重要物理参数.当 DNA 与药物发生插入模式作用时,DNA 的双螺旋结构更加稳定,并且链增长,因此熔点及相对粘度都有明显地升高.通过对 DNA 的熔点及相对粘度的测量,可得 DNA 与药物作用的信息.监测 DNA 的 A_{260} 值随温度的变化($[\text{DNA 碱基对}]/[\text{卟啉}] = 60$),求得 DNA 的熔点变化,结果列于表 1.用乌贝路德粘度计在 20°C 测定粘度,相对粘度(η/η_0)随 R 值($[\text{DNA 碱基对}]/[\text{卟啉}]$)的变化如图 2 所示.

表 1 配合物与 DNA 作用性质

Table 1 Interaction results of porphyrins and CT DNA

Porphyrin	Buffer $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}^a$	$\Delta\lambda_{\text{max}}/\text{nm}^b$	H(%) ^b	$K \times 10^{-3}/(10^3 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1})^c$	$\Delta T/^\circ\text{C}^b$
p-TMPyPc	425	6	11	765 ± 56	0.8
o-TMPyPc	423	4	4.2	330 ± 23	0
p-TMPyPCu	423	6	16.6	2760 ± 230	1.6
o-TMPyPCu	423	4	7.7	1280 ± 118	1.4
p-TMPyPNi	420	7	35	2910 ± 245	2.5
o-TMPyPNi	418	4	21	1940 ± 154	0.5
p-TMPyP	424	9	19	2270 ± 198	1.0
o-TMPyP	423	5	17	936 ± 77	0.3
TPPyP	424	8	25	3324 ± 280	2.4

(a) $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ tris-HCl, $0.03 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl pH=7.4, (b) $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ tris-HCl, $0.03 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl pH=7.4 $C_{\text{DNA base}}/C_p = 60$, (c) $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ tris-HCl, $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl pH=7.4, H% 代表卟啉与 DNA 作用后其 Soret 带的减色百分比

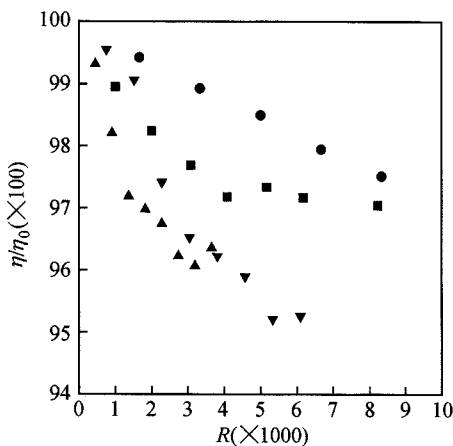


图 2 DNA 相对粘度 η/η_0 随 R 值的变化

$$R = C_p/C_{\text{DNA}} \text{ 在 } 0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$$

tris-HCl pH=7.4, $0.03 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl

Fig.2 Variation of the relative viscosity of DNA with R

●—TPPyP, ■—p-TMPyPc, ▲—p-TMPyPCu, ▼—o-TMPyPc

结果表明,我们合成的卟啉与 DNA 作用,引起的熔点变化不超过 2.5°C;对粘度的影响也不象四(4-N-甲基吡啶基)卟啉[TMPyP(4)]及四(3-N-甲基吡啶基)卟啉[TMPyP(3)]引起 CT DNA 粘度升高,而是引起 DNA 的粘度略微下降.表 1 结果表明这些卟啉与 DNA 不存在插入模式作用.

带正电的卟啉及金属卟啉与 DNA 作用有以下几种模式:(1)混合作用模式,既有插入作用又有外部作用模式,插入作用发生在 5'-CG-3'-碱基对,外部作用在 AT 碱基对富集区,如 TMPyP(4)和 CuTMPyP(4);(2)外部作用模式,如 TMPyP(2),主要通过静电与范德华力结合在 AT 富集的小沟区^[15,16];(3)一些容易聚合的卟啉在较高浓度及高盐浓度下,在 DNA 表面发生长程堆积作用^[14,17].

卟啉与 DNA 发生插入模式结合有以下几点^[8,14]判据(1)卟啉吸收带红移大于 15 nm,减色大于 35%,(2)有较大的熔点升高(3)粘度升高 $[\log(\eta/\eta_0)/\log(1 + 2R) > 1.1, R = C_p/C_{\text{DNA base}}]$.根据卟啉与 DNA 发

生插入作用的几点判据,又因为在我们的实验条件下,不可能发生卟啉的长程堆积作用.因此,我们认为这些带较长侧链的卟啉与 CT DNA 作用,主要是通过静电及范德华力结合在 DNA 的小沟 AT 富集区的外部作用模式,并不象四(4-N-甲基吡啶基)卟啉及四(3-N-甲基吡啶基)卟啉与 DNA 作用,有插入模式也有外部结合模式.

References

- 1 Latouche, C.; Pereyre, M.; Verlhac, J. - B. *Tetrahedron Lett.*, **1995**, 36(10), 1655.
- 2 Ali, H.; van Lier, J. - E. *Chem. Rev.*, **1999**, 99(9), 2379.
- 3 a) Ding, L.; Etemad - moghadam, G.; Meunier, B. *Biochemistry*, **1990**, 29(34), 7868.
b) Ding, L.; Etemad - moghadam, G.; Cros, S.; Aucleir, C.; Meunier, B. *J. Med. Chem.*, **1991**, 34(3), 900.
- 4 a) Czuchajowski, L.; Habdas, J.; Niedbala, H.; Wandrekar, V. *J. Heterocyclic Chem.*, **1992**, 29, 479
b) Czuchajowski, L.; Habdas, J.; Niedbala, H.; Wandrekar, V. *Tetrahedron Lett.*, **1991**, 32, 7511.
c) Kus, P.; Knerr, G.; Czuchajowski, L.; *Tetrahedron Lett.*, **1990**, 31, 5133.
- 5 Mirisola, M. G.; Pellerito, A.; T.; Fiore, T.; Stollo, G. C.; Pellerito, L.; Cestelli, A. *Appl. Organomet. Chem.*, **1997**, 11(6), 499.
- 6 Keinan, E.; Benory, E.; Sinha, S. C.; Sinha - Bagchi, A.; Eren, D.; Eshhar, Z.; Green, B. S. *Inorg. Chem.*, **1992**, 31(26), 5433.
- 7 a) Little, R. G.; Anton, J. A.; Loach, P. A., *J. A. Heterocyclic Chem.*, **1975**, 12(2), 343.
b) Christiane, C.; Bernadette, S. - J.; Loup, C.; C. J.; Lacey, C. J.; Meunier, B. *J. Org. Chem.*, **1993**, 58(10), 2913.
- 8 Sari, M. A.; Battioni, J. P.; Dupre, D.; Mansury, D.; Lepecq, J. B.; *Biochemistry*, **1990**, 29, 4205.
- 9 Schneider, H. - J.; Wang, M. - X. *J. Org. Chem.*, **1994**, 59(24), 7464.
- 10 Le peq, J. B.; Paoletti, C. *J. Mol. Biol.*, **1967**, 27, 87.
- 11 Fiel, R. J.; Howard, J. C.; Mark, E. H.; Datta - Gupta, N. *Nucleic Acids Res.*, **1979**, 6, 3093.
- 12 a) Dougherty, G.; Pilbrow, J. R. *Int. J. Biochem.*, **1985**, 24, 1179.
b) Dougherty, G.; Pilbrow, J. R.; Skorobogaty, A.; Smith, T. D. *J. Chem. Soc., Faraday Trans.*, **1985**, 281, 1739.
- 13 Wang, R. - Q.; Yuan, Y.; Huang, J. - F., *Acta Chimica Sinica*, **1999**, 57, 171(in Chinese).
- 14 Schneider, H. - J.; Wang, M. - X. *J. Org. Chem.*, **1994**, 59(24), 7473.
- 15 Wan, K. - X.; Shibue, T.; Gross, M. L. *J. Am. Chem. Soc.*, **2000**, 122, 300.
- 16 Strickland, J. A.; Banville, D.; Wilson, W. D.; Marzilli, W. D.; *Inorg. Chem.*, **1987**, 26, 3398.
- 17 Pasternack, R. F.; Bustamante, C.; Collings, P. J; Giannetto, A.; Gibbs, E. J. *J. Am. Chem. Soc.*, **1993**, 115, 5393.

(Ed. SHEN Hong)

(ZHENG Guo - Cheng)