

• 研究论文 •

## 缬氨酸 Schiff 碱和 $N,N'$ -杂环碱三元铜配合物的合成、 晶体结构及与 BSA 作用

程建平<sup>a,b</sup> 林秋月<sup>\*,a,b</sup> 朱文忠<sup>a,b</sup> 胡瑞定<sup>a,b</sup> 王娜<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup>浙江省固体表面反应化学重点实验室 金华 321004

<sup>b</sup>浙江师范大学化学与生命科学学院 金华 321004

**摘要** 合成了铜与水杨醛缩缬氨酸 Schiff 碱(salval)分别和 1,10-菲咯啉(phen)及 2,2'-联吡啶(bpy)形成的三元配合物 [Cu(salval)(phen)] (**1**), [Cu(salval)(bpy)]·3H<sub>2</sub>O (**2**). 通过元素分析, 摩尔电导, IR, UV, TG-DTG 对其进行了表征. 配合物 **2** 的结构经 X 射线单晶衍射确定, 三斜晶系,  $P-1$  空间群:  $a=0.92676(3)$  nm,  $b=1.03143(4)$  nm,  $c=1.25042(3)$  nm;  $\alpha=74.108(2)^\circ$ ,  $\beta=77.2240(10)^\circ$ ,  $\gamma=81.5880(10)^\circ$ ,  $V=1.11642(6)$  nm<sup>3</sup>,  $D_c=1.467$  g·cm<sup>-3</sup>,  $Z=2$ ,  $F(000)=514$ , 最后吻合因子  $R_1=0.0441$ ,  $wR_2=0.0856$  [ $I>2\sigma(I)$ ]. 同时用荧光法研究了配合物与牛血清白蛋白(BSA)的相互作用. 结果表明, 两种配合物对 BSA 的荧光都有较强的猝灭作用, 静态猝灭是引起猝灭的主要原因. 在浓度比  $c_{\text{配合物}}/c_{\text{BSA}}$  为 0~10 范围内, 配合物 **1** 和配合物 **2** 在 BSA 上只有 1 个结合位点; 25 °C 结合常数  $K_A$  分别为  $6.50 \times 10^5$  (**1**),  $4.33 \times 10^5$  (**2**) L·mol<sup>-1</sup>; 给体(BSA)与受体(配合物)间的最近距离  $r$  分别为 3.85 (**1**), 4.26 (**2**) nm. 说明两种配合物都能部分插入 BSA 分子内部, 且配合物 **1** 与 BSA 的作用强于配合物 **2**.

**关键词** 缬氨酸; 水杨醛; 铜配合物;  $N,N'$ -杂环碱; 牛血清白蛋白; 荧光光谱

## Synthesis, Crystal Structure of Copper Complexes of *DL*-Valinato Schiff Base with $N,N'$ -Heterocyclic Bases and the Interaction with BSA

CHENG, Jian-Ping<sup>a,b</sup> LIN, Qiu-Yue<sup>\*,a,b</sup> ZHU, Wen-Zhong<sup>a,b</sup>

HU, Rui-Ding<sup>a,b</sup> WANG, Na<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup>Zhejiang Key Laboratory for Reaction Chemistry on Solid Surfaces, Jinhua 321004)

<sup>b</sup>College of Chemical and Life Science, Zhejiang Normal University, Jinhua 321004)

**Abstract** Two copper ternary complexes of *N*-salicylidene-*DL*-valinato Schiff base with 1,10-phenanthroline [Cu(salval)(phen)] (**1**) and 2,2'-bipyridine [Cu(salval)(bpy)]·3H<sub>2</sub>O (**2**) were synthesized and characterized via elemental analysis, molar conductance, IR, UV and TG-DTG. The structure of **2** was determined by single crystal X-ray crystallography, which is of triclinic, space group  $P-1$  with  $a=0.92676(3)$  nm,  $b=1.03143(4)$  nm,  $c=1.25042(3)$  nm,  $\alpha=74.108(2)^\circ$ ,  $\beta=77.2240(10)^\circ$ ,  $\gamma=81.5880(10)^\circ$ ,  $V=1.11642(6)$  nm<sup>3</sup>,  $D_c=1.467$  g·cm<sup>-3</sup>,  $Z=2$ ,  $F(000)=514$ ,  $R_1=0.0441$  and  $wR_2=0.0856$  [ $I>2\sigma(I)$ ]. At the same time, the binding reaction between the complexes and bovine serum albumin (BSA) was studied by fluorescence spectroscopy. The research results indicated that the two complexes had a quite strong ability to quench the fluorescence from BSA and their combination reactions were mainly a static quenching process. The two complexes strongly bound BSA with a molar ratio of 1 : 1 and the binding constant  $K_A$  values at 25 °C were  $6.50 \times 10^5$  (**1**) and  $4.33 \times 10^5$  (**2**) L·mol<sup>-1</sup>, respectively. The shortest binding distance  $r$  between the donor BSA and acceptor of the ternary complexes were 3.85 (**1**) and 4.26 (**2**) nm, respectively, which affirms that

\* E-mail: sky51@zjnu.cn

Received March 24, 2008; revised June 20, 2008; accepted August 1, 2008.

浙江省自然科学基金(No. Y407301)资助项目.

the ternary complexes have partly inserted into the hydrophobic pocket of BSA and the interaction ability of complex **1** is stronger than that of complex **2**.

**Keywords** valine; salicylaldehyde; copper complex; *N,N'*-heterocyclic base; bovine serum albumin (BSA); fluorescence spectra

药物小分子与生物大分子(核酸、蛋白质等)的结合研究是近年来生命科学领域的热门课题. 血清白蛋白是血浆中含量最丰富的一种蛋白, 不仅起着维持血浆渗透压的作用, 还能与许多内源、外源性化合物结合, 负责它们在体内的贮备和运输<sup>[1]</sup>. 研究牛血清白蛋白与药物分子的结合反应, 有助于认识药物的吸收、扩散和药理, 对药物分子的设计与筛选具有重要意义.

铜氨基酸水杨醛 Schiff 碱配合物不仅是生物体内多种酶的模型化合物, 而且具有抗菌、抗癌活性<sup>[2]</sup>. 据报道其与邻菲咯啉或联吡啶等杂环碱形成三元配合物后抗癌活性更高, 有望成为新的肿瘤化疗试剂<sup>[3]</sup>. 因此, 我们首次合成了由水杨醛缩缬氨酸 Schiff 碱合铜分别与邻菲咯啉和联吡啶形成的两种三元配合物, 得到了水杨醛缩缬氨酸-铜-2,2'-联吡啶配合物的单晶并测定了它的晶体结构, 还用荧光法研究了两种配合物与牛血清白蛋白的结合反应, 为该类物质在药物领域的应用及生物无机化学、分子生物学方面的研究提供一定的理论依据.

## 1 实验部分

### 1.1 仪器和试剂

Vario EL III 元素分析仪(德国 Elementar 公司); ORION 150A<sup>+</sup>型电导率仪(美国 Orion 公司); NEXUS-670 型傅立叶变换红外光谱仪(美国 Thermo Nicolet 公司); UV-2501PC 紫外可见分光光度计(日本 Shimadzu 公司); TGA/SDTA851<sup>o</sup> 型热分析仪(瑞士 Mettler-Toledo 公司); LS55 型荧光光度计(美国 Perkin Elmer 公司); SMART APEX II CCD 单晶衍射仪(德国 Bruker 公司).

水杨醛, *DL*-缬氨酸, Cu(OAc)<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>O, 1,10-菲咯啉(phen·H<sub>2</sub>O), 2,2'-联吡啶(bpy)均为分析纯, 购自国药集团上海化学试剂有限公司; 牛血清白蛋白(BSA)购于上海伯奥生物科技有限公司; 其余试剂均为分析纯, 实验用水为二次蒸馏水.

### 1.2 配合物的合成

#### 1.2.1 水杨醛缩缬氨酸 Schiff 碱合铜的合成

参照文献[4]方法, 5 mmol 缬氨酸与适量 KOH 在 95%乙醇中回流 1 h. 60 °C 下向上述溶液滴入含 5 mmol 水杨醛的 95%乙醇溶液, 搅拌 1.5 h, 然后加入等物质的量的 Cu(OAc)<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>O, 继续搅拌 4 h, 所得蓝色沉淀用水

和乙醇多次洗涤后干燥. 元素分析表明配合物组成为 C<sub>12</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>5</sub>Cu.

#### 1.2.2 配合物[Cu(salval)(phen)] (**1**)的合成

1 mmol 水杨醛缩缬氨酸 Schiff 碱合铜溶于 10 mL 甲醇-水的混合溶剂中(*V*:*V*=1:4), 向其滴加含等物质量 phen·H<sub>2</sub>O 的甲醇溶液, 混合液在室温下搅拌 5 h 后过滤. 滤液静置, 几天后析出绿色针状沉淀, 沉淀用甲醇重结晶, 产率 60%.

#### 1.2.3 配合物[Cu(salval)(bpy)]·3H<sub>2</sub>O (**2**)的合成

用 bpy 代替 phen·H<sub>2</sub>O, 方法与配合物 **1** 的合成相似, 产率 45%. 用甲醇重结晶后的滤液常温下静置, 一周后析出绿色片状单晶.

### 1.3 配合物与 BSA 的作用

牛血清白蛋白(BSA)用 0.05 mol·L<sup>-1</sup> 的 NaCl 溶液配成 ρ 为 5 g·L<sup>-1</sup> 的储备液, 置于 1~4 °C 保存; 配合物用 DMSO-H<sub>2</sub>O 混合溶剂(*V*:*V*=1:4)配成 10<sup>-4</sup> mol·L<sup>-1</sup> 的原液; Tris 缓冲液(5 mmol·L<sup>-1</sup> Tris/50 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl, pH=7.4)按常规方法配制.

#### 1.3.1 荧光光谱

将 5 g·L<sup>-1</sup> 的 BSA 储备液稀释 10 倍后, 移取 1.34 mL 于 10 mL 比色管中, 加入不同量的配合物溶液, 用 Tris 缓冲液定容至刻度, 得到各测试液(均含 BSA 1.0×10<sup>-6</sup> mol·L<sup>-1</sup>). 激发波长 280 nm, 狭缝宽度 3 nm, 记录 290~500 nm 范围内的荧光发射光谱.

#### 1.3.2 同步荧光光谱

测试液的配制与 1.3.1 节相同. 激发和发射单色器同时进行扫描, 改变发射波长 λ<sub>em</sub> 与激发波长 λ<sub>ex</sub> 间的波长差 Δλ, λ<sub>em</sub>=λ<sub>ex</sub>+Δλ, 分别在 Δλ=15 nm 和 Δλ=60 nm 时记录同步荧光光谱.

#### 1.3.3 紫外-可见光谱

以 Tris 缓冲液作参比测定与 BSA 等浓度的配合物的吸收光谱.

### 1.4 配合物 **2** 的晶体结构测定

选取 0.175 mm×0.157 mm×0.057 mm 配合物 **2** 的单晶, 置于 Bruker SMART CCD 衍射仪上, 以石墨单色化的 Mo Kα (λ=0.071073 nm)射线为辐射源, 在 1.72°≤θ≤27.55°范围内, 采用 ω/φ 扫描方式, 296(2) K 下收集 19115 个衍射点, 其中独立衍射点为 5118 个 (*R*<sub>int</sub>=

0.0604), 可观测衍射点为 3602 个 [ $I > 2\sigma(I)$ ]. 所有衍射数据经半经验方法进行吸收校正.

晶体结构由 SHELEX97 程序用直接法解出, 对全部非氢原子坐标及各向异性热参数用全矩阵最小二乘法进行修正. 碳上需要加氢的用几何法加氢, 水上的氢由差值 Fourier 法定位. 氢原子按骑式模式参加修正. 晶体为三斜晶系, *P*-1 空间群:  $a = 0.92676(3)$  nm,  $b = 1.03143(4)$  nm,  $c = 1.25042(3)$  nm;  $\alpha = 74.108(2)^\circ$ ,  $\beta = 77.2240(10)^\circ$ ,  $\gamma = 81.5880(10)^\circ$ ,  $V = 1.11642(6)$  nm<sup>3</sup>,  $D_c = 1.467$  g·cm<sup>-3</sup>,  $Z = 2$ ,  $F(000) = 514$ , 最后吻合因子  $R_1 = 0.0441$ ,  $wR_2 = 0.0856$  [ $I > 2\sigma(I)$ ], 最终差值电子云图中最大残余正峰和最大残余负峰分别为  $\Delta\rho_{\max} = 309$  e/nm<sup>3</sup> 和  $\Delta\rho_{\min} = -341$  e/nm<sup>3</sup>.

## 2 结果与讨论

### 2.1 配合物的表征

#### 2.1.1 配合物的组成与性质

三元配合物在空气中较稳定, 易溶于甲醇, DMSO, DMF 等强极性有机溶剂; 在 H<sub>2</sub>O 和丙酮、乙醚等低极性有机溶剂中难溶. 配合物 **1** 的元素分析及摩尔电导值: Anal. calcd for C<sub>24</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>Cu: C 62.26, H 4.57, N 9.08, Cu 13.73; found C 62.03, H 4.66, N 9.02, Cu 13.48.  $A_m$  (10<sup>-3</sup> mol·L<sup>-1</sup>, DMSO, 20 °C): 2.3 s·cm<sup>2</sup>·mol<sup>-1</sup>, 为非电解质<sup>[5]</sup>. 因此推测配合物 **1** 的组成为 [Cu(salval)·(phen)]. 配合物 **2** 的元素分析及摩尔电导值: Anal. calcd for C<sub>22</sub>H<sub>27</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>Cu: C 53.60, H 5.52, N 8.52, Cu 12.89; found C 53.66, H 5.54, N 8.79, Cu 12.77.  $A_m$  (10<sup>-3</sup> mol·L<sup>-1</sup>, DMSO, 20 °C): 1.8 s·cm<sup>2</sup>·mol<sup>-1</sup>, 为非电解质<sup>[5]</sup>. 因此推测配合物 **2** 的组成为 [Cu(salval)(bpy)]·3H<sub>2</sub>O [配合物中 Cu(II)含量为 EDTA 滴定分析结果].

#### 2.1.2 红外和紫外-可见光谱

红外吸收光谱数据见表 1. 配合物 **1** 和配合物 **2** 中 Schiff 碱亚氨基(C=N)和酚氧键(Ph—O)的特征吸收峰与自由 Schiff 碱相比均发生了红移, 说明亚氨基氮和酚羟基氧参与了配位.  $\nu_{\text{as}}(\text{COO}^-)$  的吸收峰在 **1** 和 **2** 中分别位于 1630 和 1602 cm<sup>-1</sup>,  $\nu_{\text{s}}(\text{COO}^-)$  位于 1400 和 1401

cm<sup>-1</sup>, 差值  $\Delta = \nu_{\text{as}}(\text{COO}^-) - \nu_{\text{s}}(\text{COO}^-) > 200$  nm, 符合羧酸根以单齿形式配位的特征<sup>[6]</sup>. 与二元配合物相比, 三元配合物的红外谱图中出现了 phen 或 bpy 的特征吸收峰, 自由配体 phen<sup>[7]</sup> 或 bpy<sup>[8]</sup> 分别在 850, 732 和 1041, 760 cm<sup>-1</sup> 处的芳环碳氢面外弯曲振动( $\delta_{\text{C-H}}$ )峰在形成配合物后均有不同程度的红移, 显示 phen 或 bpy 的氮原子与 Cu 配位. 低波数区  $\nu(\text{Cu—N})$  和  $\nu(\text{Cu—O})$  吸收峰的出现, 进一步佐证了氮原子和氧原子与 Cu 发生配位.

在甲醇溶液中自由 Schiff 碱于  $\lambda_{\max}/\text{nm}$  [ $\epsilon/(\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1})$ ]: 317 (3080), 256 (18440), 215 (23500) 处出现三个紫外吸收峰, 归属于亚氨基和芳环的  $\pi-\pi^*$  跃迁<sup>[9]</sup>. 配合物 **1** 在  $\lambda_{\max}/\text{nm}$  [ $\epsilon/(\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1})$ ]: 367 (2850), 268 (21280), 244 (16020), 225 (29780); 配合物 **2** 在  $\lambda_{\max}/\text{nm}$  [ $\epsilon/(\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1})$ ]: 365 (3620), 272 (16860), 242 (24140), 223 (20400) 各自产生四个吸收峰, 显示 Schiff 碱和杂环碱同时参与配位而使共轭程度增强.

#### 2.1.3 热重分析

在空气气氛中, 以 10 °C·min<sup>-1</sup> 的升温速率对配合物 **1** 在 30~800 °C 的热分解行为作了研究. 图 1 中 TG-DTG 曲线显示 200 °C 前基本没有失重, 说明配合物不含溶剂分子; 200~380 °C 出现缓慢失重, 失重率 44.04% (理论值: 43.90%), 推测为 Schiff 碱配体的逐步氧化分解过程; 450 °C 左右有一明显失重, 失重率 38.96%, 与失去一分子邻菲咯啉的理论值 (38.92%) 一致, 到 800 °C 左右时质量基本恒定, 残余物为 CuO, 残余量为 16.87% (理论值: 17.18%).

### 2.2 配合物 2 的晶体结构

配合物 **2** 的分子结构如图 2, 主要键长和键角见表 2. Cu<sup>2+</sup> 采取变形的四方锥配位构型 (结构因子  $\tau_{\text{av}} = 0.19$ ), Schiff 碱中的三个原子 O(1), O(3), N(3) 和联吡啉的一个氮原子 N(2) 位于赤道平面, 联吡啉的另一个氮原子 N(1) 占据锥顶. 锥面上 Cu—N, Cu—O 键长在 0.19337(19)~0.2014(2) nm 内, 与同类五配位铜配合物<sup>[10]</sup> 的键长范围一致. 轴向 Cu—N 键长为 0.2260(2) nm, 由于 Jahn-Teller 效应略有拉长. 键角 O(1)—Cu(1)—N(3) 93.48(8)°, N(3)—Cu(1)—O(3) 82.87(8)°, O(1)—Cu(1)—

表 1 Schiff 碱配体及配合物的红外特征吸收频率 (cm<sup>-1</sup>)<sup>a</sup>

Table 1 Main IR absorption frequencies (cm<sup>-1</sup>) of Schiff base and complexes

Compound	$\nu(\text{C}=\text{N})$	$\nu_{\text{as}}(\text{COO}^-)$	$\nu_{\text{s}}(\text{COO}^-)$	$\nu(\text{Ph}-\text{O})$	$\nu(\text{Cu}-\text{N})$	$\nu(\text{Cu}-\text{O})$	$\nu(\text{phen or bpy})$
KL <sup>b</sup>	1637 (s)	1606 (m)	1376 (s)	1310 (m)	—	—	—
[Cu(L)(H <sub>2</sub> O)]·H <sub>2</sub> O	1647 (s)	1612 (m)	1400 (vs)	1277 (m)	547 (w)	457 (w)	—
[Cu(L)(phen)] ( <b>1</b> )	1630 (vs)	1630 (m)	1399 (s)	1301 (m)	513 (w)	472 (w)	1502 (m), 1410 (m), 841 (w), 728 (w)
[Cu(L)(bpy)]·3H <sub>2</sub> O ( <b>2</b> )	1635 (s)	1602 (m)	1401 (vs)	1297 (m)	520 (w)	446 (w)	1576 (m), 1445 (m), 1034 (w), 764 (w)

<sup>a</sup> KBr phase; <sup>b</sup> L = salval.

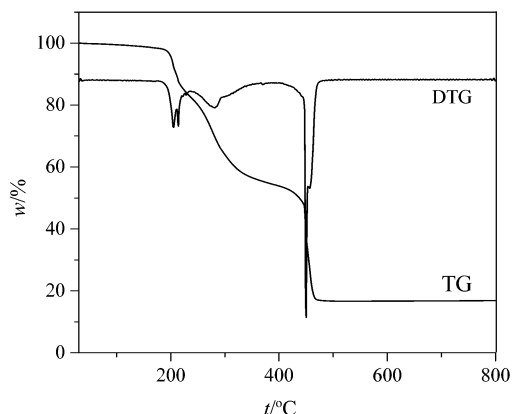


图1 配合物1的TG-DTG的曲线

Figure 1 TG-DTG curves of complex 1

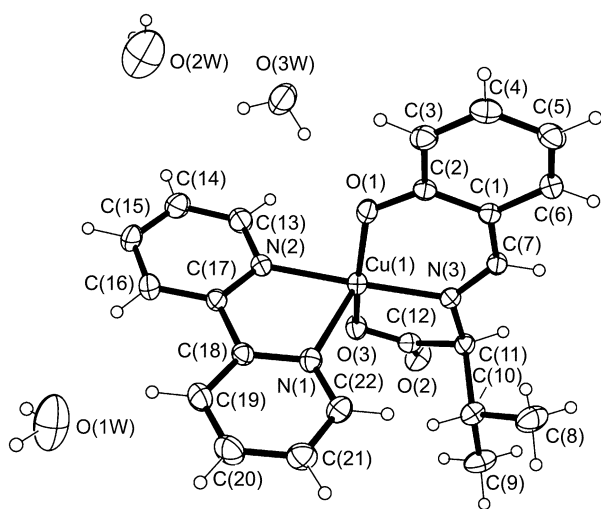


图2 配合物2的分子结构图

Figure 2 Molecular structure of complex 2

$\text{N}(2)-\text{Cu}(1)-\text{N}(3)$   $90.74(8)^\circ$ ,  $\text{O}(3)-\text{Cu}(1)-\text{N}(2)$   $90.62(8)^\circ$ 之和为  $357.71^\circ$ , 说明 Cu 与锥底  $\text{O}(1)-\text{O}(3)-\text{N}(3)-\text{N}(2)$ 基本

共面. 在结构上, 2,2'-联吡啶比 1,10-菲咯啉更容易扭曲, 2,2'-联吡啶配位后两个吡啶环并非完全处于同一平面内, 而常常带有一定的夹角<sup>[11]</sup>.  $\text{N}(1)$ 所在吡啶环与  $\text{N}(2)$ 所在吡啶环的夹角为  $1.6^\circ$ .

分子堆积图(图 3)显示配合物中存在丰富的氢键. 分子间存在的  $\text{O}(3\text{W})-\text{H}(3\text{WA}) \cdots \text{O}(1)$ ,  $\text{O}(3\text{W})-\text{H}(3\text{WB}) \cdots \text{O}(2)$ 和  $\text{O}(1\text{W})-\text{H}(1\text{WB}) \cdots \text{O}(2)$  氢键[其键长分别为  $0.2810(3)$ ,  $0.2818(3)$ ,  $0.2797(4)$  nm, 键角分别为  $172(5)^\circ$ ,  $165(3)^\circ$ ,  $171(5)^\circ$ ]说明了结晶水分子中的氧原子 ( $\text{O}(3\text{W})$ ,  $\text{O}(1\text{W})$ )与 Schiff 碱中的酚羟基氧原子  $\text{O}(1)$ 以及羧基氧原子  $\text{O}(2)$ 相连. 同时水分子之间也通过氢键  $\text{O}(1\text{W})-\text{H}(1\text{WA}) \cdots \text{O}(2\text{W})$ 和  $\text{O}(2\text{W})-\text{H}(2\text{WB}) \cdots \text{O}(3\text{W})$ 连接起来, 其键长分别为  $0.2779(5)$ ,  $0.2694(5)$  nm, 键角分别为  $168(5)^\circ$ ,  $167(5)^\circ$ . 值得一提的是, 酚羟基氧与联吡啶  $\alpha$  位碳上的氢形成弱的分子内氢键. 这些氢键的作用形成了配合物的三维网状结构.

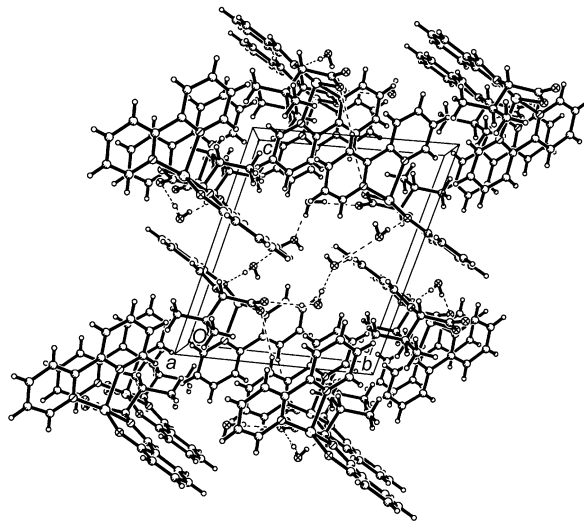


图3 配合物2的晶胞图

Figure 3 Crystal packing of complex 2

表2 配合物2的部分键长(nm)和键角( $^\circ$ )

Table 2 Selected bond lengths (nm) and angles ( $^\circ$ ) of complex 2

$\text{Cu}(1)-\text{O}(1)$	0.19337(19)	$\text{O}(1)-\text{C}(2)$	0.1317(3)	$\text{N}(2)-\text{C}(17)$	0.1342(3)
$\text{Cu}(1)-\text{N}(3)$	0.1940(2)	$\text{O}(2)-\text{C}(12)$	0.1233(3)	$\text{N}(3)-\text{C}(7)$	0.1282(3)
$\text{Cu}(1)-\text{O}(3)$	0.19796(19)	$\text{O}(3)-\text{C}(12)$	0.1279(3)	$\text{C}(1)-\text{C}(2)$	0.1417(3)
$\text{Cu}(1)-\text{N}(2)$	0.2014(2)	$\text{N}(1)-\text{C}(18)$	0.1343(3)	$\text{C}(1)-\text{C}(7)$	0.1437(4)
$\text{Cu}(1)-\text{N}(1)$	0.2260(2)	$\text{N}(2)-\text{C}(13)$	0.1342(3)	$\text{C}(17)-\text{C}(18)$	0.1488(4)
$\text{O}(1)-\text{Cu}(1)-\text{N}(3)$	93.48(8)	$\text{O}(1)-\text{Cu}(1)-\text{N}(1)$	96.91(8)	$\text{C}(2)-\text{O}(1)-\text{Cu}(1)$	126.53(16)
$\text{O}(1)-\text{Cu}(1)-\text{O}(3)$	159.84(8)	$\text{N}(3)-\text{Cu}(1)-\text{N}(1)$	109.82(8)	$\text{C}(12)-\text{O}(3)-\text{Cu}(1)$	115.09(17)
$\text{N}(3)-\text{Cu}(1)-\text{O}(3)$	82.87(8)	$\text{O}(3)-\text{Cu}(1)-\text{N}(1)$	102.99(8)	$\text{C}(13)-\text{N}(2)-\text{Cu}(1)$	121.89(19)
$\text{O}(1)-\text{Cu}(1)-\text{N}(2)$	90.74(8)	$\text{N}(2)-\text{Cu}(1)-\text{N}(1)$	76.92(8)	$\text{C}(17)-\text{N}(2)-\text{Cu}(1)$	119.52(19)
$\text{N}(3)-\text{Cu}(1)-\text{N}(2)$	171.49(9)	$\text{C}(7)-\text{N}(3)-\text{Cu}(1)$	125.80(18)	$\text{C}(22)-\text{N}(1)-\text{Cu}(1)$	130.52(19)
$\text{O}(3)-\text{Cu}(1)-\text{N}(2)$	90.62(8)	$\text{C}(11)-\text{N}(3)-\text{Cu}(1)$	112.82(17)	$\text{C}(18)-\text{N}(1)-\text{Cu}(1)$	111.53(17)

## 2.3 配合物与 BSA 的作用

### 2.3.1 BSA 的荧光猝灭光谱和猝灭机理

当激发波长为 280 nm 时, 两种配合物在 300~500 nm 范围内均不发射荧光, 蛋白质由于色氨酸残基和酪氨酸残基的存在具有内源荧光. 固定 BSA 浓度, 逐步增加配合物浓度, BSA 在 350 nm 的荧光产生有规律的猝灭, 且峰形保持不变, 如图 4 所示. 由于微量 DMSO 对 BSA 几乎没有影响<sup>[12]</sup>, 说明配合物与 BSA 发生了作用.

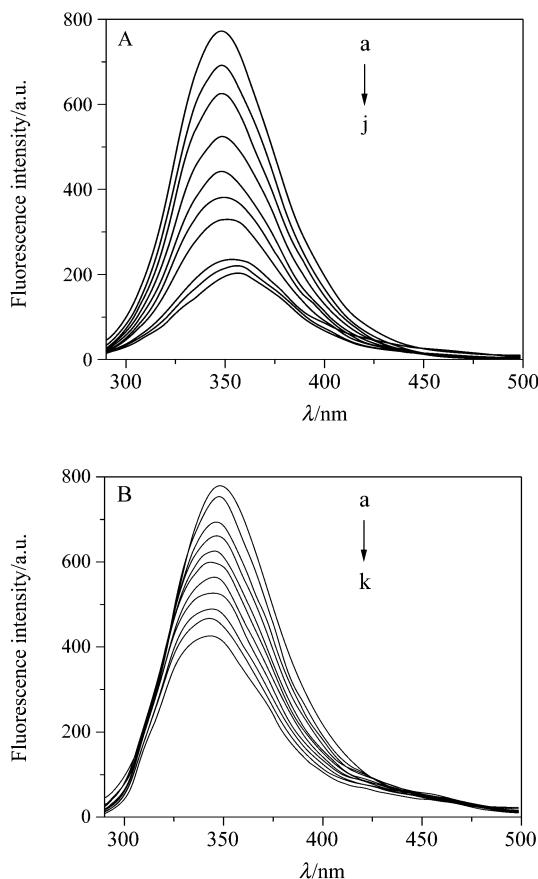


图 4 25 °C 配合物 1 和 2 对 BSA 的荧光猝灭

Figure 4 Effect of complexes 1 and 2 on the fluorescence spectra of BSA at 25 °C

(A) complex 1; (B) complex 2.  $\lambda_{ex}/\lambda_{em}=280\text{ nm}/350\text{ nm}$ ,  $c_{BSA}=1.0\times 10^{-6}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  in all cases;  $c_1/(10^{-6}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1})=0, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 8.0, 9.0, 10.0$  from a to j, respectively;  $c_2/(10^{-6}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1})=0, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0, 10.0$  from a to k, respectively

若将配合物对 BSA 荧光的猝灭归因于分子碰撞引起的动态猝灭, 按照 Stern-Volmer 方程<sup>[13]</sup>:  $F_0/F=1+K_q\tau_0[Q]=1+K_{sv}[Q]$ , 式中:  $K_q$  为双分子猝灭过程速率常数,  $\tau_0$  为猝灭剂不存在时物质的荧光寿命,  $K_{sv}$  为动态猝灭常数,  $[Q]$  为猝灭剂的浓度, 显然有  $K_{sv}=K_q\tau_0$ . 对  $F_0/F$  与  $[Q]$  进行线性拟合, 得到直线. 由直线斜率求出  $K_{sv}/(\text{L}\cdot\text{mol}^{-1})=2.85\times 10^5$  (1),  $7.57\times 10^4$  (2). 由于生物大分子荧光平均寿命大约为  $10^{-8}\text{ s}$ <sup>[14]</sup>, 进而可以求得

$K_q/(\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{s}^{-1})=2.85\times 10^{13}$  (1),  $7.57\times 10^{12}$  (2). 猝灭速率常数  $K_q$  远大于各种猝灭体对生物大分子的最大扩散猝灭常数( $2\times 10^{10}\text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$ ), 表明两种配合物对 BSA 的荧光猝灭并不是由扩散控制的动态猝灭, 而为形成基态复合物所引起的静态猝灭<sup>[15]</sup>.

### 2.3.2 配合物与 BSA 的结合常数 $K_A$ 和结合位点数 $n$

假定药物在蛋白质分子上有  $n$  个相同且独立的结合位点, 根据文献[16]导出公式:  $\lg(F_0-F)/F=\lg K_A+n\lg[Q]$ , 利用图 4 实验数据, 以  $\lg(F_0-F)/F$  对  $\lg[Q]$  作图 (图 5), 二者呈现良好的线性关系. 由直线的截距和斜率求得  $K_A$  和  $n$  分别为:  $K_A/(\text{L}\cdot\text{mol}^{-1})=6.50\times 10^5$  (1),  $4.33\times 10^5$  (2);  $n=1.073$  (1),  $1.154$  (2).

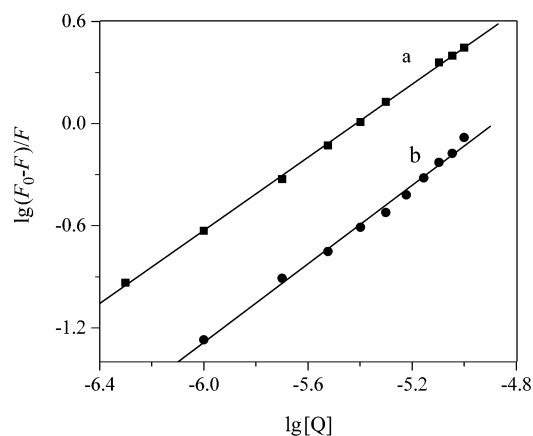


图 5 BSA 荧光猝灭的对数曲线

Figure 5 Logarithmic plots of fluorescence quenching of BSA (a) Complex 1; (b) complex 2

所得数据说明两种配合物与蛋白质在实验浓度范围内均以 1:1 的结合比形成复合物, 且配合物 1 的结合常数大于配合物 2. 这可能是由于邻菲咯啉比联吡啶具有更大的芳环和更强的脂溶性, 使其更易进入 BSA 的疏水腔与氨基酸残基结合.

### 2.3.3 给体(BSA)-受体(配合物)间的结合距离

根据 Förster 非辐射能量转移理论<sup>[17]</sup>, 给体-受体间能量转移效率  $E$  与给体-受体间距离  $r$  和能量转移距离  $R_0$  存在如下关系:

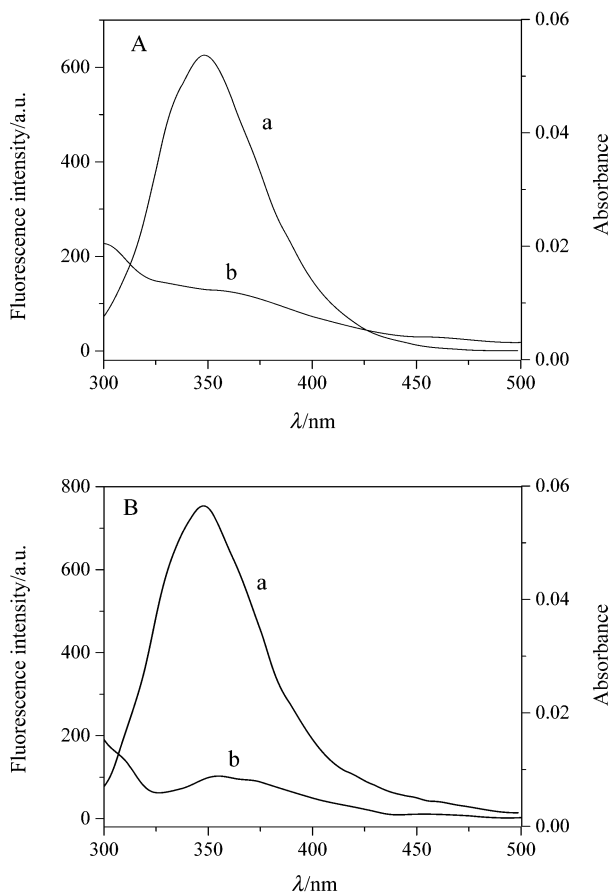
$$E=1-F/F_0=R_0^6/(R_0^6+r^6)$$

其中  $R_0$  是转移效率为 50% 时的临界距离:  $R_0^6=8.8\times 10^{-25}K^2N^4\Phi J$ . 式中  $K^2$  为偶极空间取向因子,  $N$  为介质的折射指数,  $\Phi$  为授体的荧光量子产率. 在本实验条件下, 授体与受体各项随机分布的取向因子平均值  $K^2=2/3$ ,  $N$ (折射指数)取水和有机物平均值  $N=1.336$ ,  $\Phi=0.118$ <sup>[18]</sup>.  $J$  为给体(蛋白质)的荧光发射光谱与受体的吸

收光谱间的光谱重叠积分, 可表示为:

$$J = \left[ \sum F(\lambda) \cdot \varepsilon(\lambda) \cdot \lambda^4 \Delta\lambda \right] / \left[ \sum F(\lambda) \cdot \Delta\lambda \right]$$

式中  $F(\lambda)$  为荧光授体在波长  $\lambda$  处的荧光强度,  $\varepsilon(\lambda)$  为受体在波长  $\lambda$  处的摩尔消光系数. 图 6 为 300~500 nm 范围内配合物的蛋白质的荧光发射光谱(a)与紫外吸收光谱(b). 根据公式求得重叠积分  $J$ , 结合图 4 荧光数据, 依次求得  $R_0$ ,  $E$  和  $r$  的值, 列于表 3.



**图 6** 25 °C, BSA 荧光发射光谱(a)与配合物紫外吸收光谱(b)  
**Figure 6** Fluorescence emission spectra of BSA (a) and UV absorption spectra (b) of complexes at 25 °C

(A) Complex 1; (B) complex 2.  $c_{\text{BSA}} = c_1 = c_2 = 1.0 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$

**表 3** 配合物与 BSA 作用时的有关参数( $J$ ,  $E$ ,  $R_0$  和  $r$ )

**Table 3** Relevant parameters ( $J$ ,  $E$ ,  $R_0$  and  $r$ ) of complexes-BSA systems

Complex	$J/(\text{cm}^3 \cdot \text{L} \cdot \text{mol}^{-1})$	$E/\%$	$R_0/\text{nm}$	$r/\text{nm}$
1	$1.85 \times 10^{-14}$	0.11	2.72	3.85
2	$1.16 \times 10^{-14}$	0.04	2.51	4.26

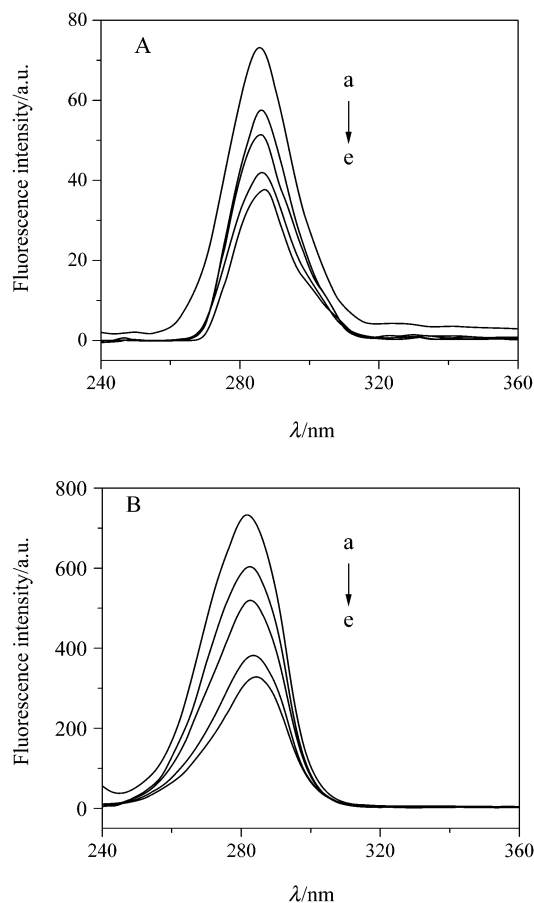
在实验条件( $\lambda_{\text{ex}}/\lambda_{\text{em}}=280 \text{ nm}/350 \text{ nm}$ , 25 °C)下, BSA 的荧光主要来自第 212 位的色氨酸残基, 该残基位于 BSA 的疏水腔内, 所求得的  $r$  值为结合部位与该残基之

间的距离<sup>[19]</sup>. 由于邻菲咯啉比联吡啶具有更大的芳环和更强的脂溶性, 更易进入 BSA 的疏水腔, 导致配合物 1 与 BSA 的结合距离  $r$  较配合物 2 小. 从两种配合物与 BSA 的结合距离均小于 7 nm 可知, 发生了能量转移, 但结合距离均大于临界距离  $R_0$ , 说明能量转移不是引起 BSA 荧光猝灭的主要原因, 其主要原因是静态猝灭.

### 2.3.4 配合物对 BSA 构象的影响

对于蛋白质的同步荧光光谱,  $\Delta\lambda=15 \text{ nm}$  时只表现酪氨酸残基的荧光;  $\Delta\lambda=60 \text{ nm}$  时仅显示色氨酸残基的荧光. 因为氨基酸残基的最大发射波长与其所处环境的疏水性有关, 所以由发射波长的改变可判断蛋白质构象的变化<sup>[17]</sup>.

固定 BSA 的浓度, 逐渐增加配合物的浓度, 扫描  $\Delta\lambda=15 \text{ nm}$  和  $\Delta\lambda=60 \text{ nm}$  的同步荧光光谱(图 7. 配合物 2 对 BSA 的影响与配合物 1 相似), 发现 BSA 的荧光主要由色氨酸残基贡献, 且酪氨酸残基的发射波长没有变化, 色氨酸残基的发射波长红移, 说明配合物 1 的加入使 BSA 的构象发生改变, 色氨酸残基所处环境的疏水



**图 7** 配合物 1 对 BSA 同步荧光的影响

**Figure 7** Effect of complex 1 on the synchronous fluorescence spectra of BSA

(A)  $\Delta\lambda=15 \text{ nm}$ ; (B)  $\Delta\lambda=60 \text{ nm}$ .  $c(\text{BSA})=1.0 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , from a to e  $c_1/(10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1})=0, 1.0, 2.0, 4.0, 5.0$ , respectively

性降低, BSA 内部的疏水结构有所瓦解, 肽链伸展程度增强<sup>[20]</sup>.

### 3 结论

合成了两种新型的铜与水杨醛缩缬氨酸 Schiff 碱和杂环碱的三元配合物, 晶体结构显示铜的配位数是 5, 与三齿 *NOO*-Schiff 碱和二齿 *N,N'*-杂环碱同时配位. 运用荧光法分别研究了两种配合物与 BSA 的作用, 结果表明配合物对 BSA 的荧光猝灭并不是由扩散控制的动态猝灭, 而是形成基态复合物所引起的静态猝灭. 复合物的形成使色氨酸残基所处环境的疏水性降低, 肽链伸展程度增强导致 BSA 的构象发生变化, 荧光产生猝灭. 结合常数和结合距离等数据表明两种配合物与蛋白质在实验浓度范围内均以 1:1 的结合比形成复合物, 且配合物 1 与 BSA 的作用强于配合物 2, 推测可能是由于第二配体邻菲咯啉比联吡啶具有更大的芳环和更强的脂溶性, 使 1 更易进入 BSA 的疏水腔与氨基酸残基结合. 这些实验结果对讨论氨基酸类希夫碱铜配合物的作用机理和代谢机制提供了可靠的实验证据, 为其在药物领域的开发和利用提供了一定的理论依据.

### References

- 1 He, X.-M.; Carter, D. C. *Nature* **1992**, 358(6383), 209.
- 2 García-Raso, Á.; Fiola, J. J.; López-Zafra, A.; Cabrerob, A.; Matab, I.; Molins, E. *Polyhedron* **1999**, 18(6), 871.
- 3 Wang, M.-Z.; Meng, Z.-X.; Liu, B.-L.; Cai, G.-L.; Zhang, C.-L.; Wang, X.-Y. *Inorg. Chem. Commun.* **2005**, 8(4), 368.
- 4 Li, S.-L.; Liu, D.-X.; Xu, H.-W.; Yang, Z.-H. *Chin. J. Struct. Chem.* **1997**, 16(2), 159 (in Chinese).  
(李淑兰, 刘德信, 徐海伟, 杨兆荷, 结构化学, **1997**, 16(2), 159.)
- 5 Geary, W. J. *Coord. Chem. Rev.* **1971**, 1, 81.
- 6 Nakamota, K. *Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds*, 3rd ed., Translated by: Huang, D. R.; Wang, R. O., Chemical Industry Press, Beijing, **1986** (in Chinese).  
(中本雄一, 无机和配位化合物的红外和拉曼光谱, 黄德如, 汪仁庆译, 化学工业出版社, 北京, **1986**.)
- 7 Boghaei, D. M.; Gharagozlou, M. *Spectrochim. Acta, Part A* **2007**, 67(3~4), 944.
- 8 Li, W.; Li, C.-H.; Yang, Y.-Q.; Kuang, Y.-F. *Chin. J. Inorg. Chem.* **2007**, 23(4), 721 (in Chinese).  
(李薇, 李昶红, 杨颖群, 匡云飞, 无机化学学报, **2007**, 23(4), 721.)
- 9 Pessoa, J. C.; Cavaco, I.; Correia, I.; Duarte, M. T.; Gillard, R. D.; Henriques, R. T.; Higes, F. J.; Madeira, C.; Tomaz, I. *Inorg. Chim. Acta* **1999**, 293(1), 1.
- 10 Reddy, P. A. N.; Nethaji, M.; Chakravarty, A. R. *Inorg. Chim. Acta* **2002**, 337, 450.
- 11 Wang, Y.-Y.; Wang, X.; Shi, Q.-Z.; Gao, Y.-C. *Acta Chim. Sinica* **2000**, 58(12), 1596 (in Chinese).  
(王尧宇, 王欣, 史启祯, 高忆慈, 化学学报, **2000**, 58(12), 1596.)
- 12 Zhou, B.; Qi, Z.-D.; Xiao, Q.; Dong, J.-X.; Zhang, Y.-Z.; Liu, Y. *J. Biochem. Biophys. Methods* **2007**, 70(5), 743.
- 13 Braun, A. M.; Maurette, M. T. *Photochemical Technology*, Ed.: Oliveros, E., Wiley, New York, **1991**, p. 41.
- 14 Bi, S.-Y.; Song, D.-Q.; Tian, Y.; Zhou, X.; Liu, Z.-Y.; Zhang, H.-Q. *Spectrochim. Acta, Part A* **2005**, 61(4), 629.
- 15 Li, G.-Z.; Liu, Y.-M.; Guo, X.-Y.; Wang, J.-J. *Acta Chim. Sinica* **2006**, 64(7), 679 (in Chinese).  
(李桂芝, 刘永明, 魏新运, 王进军, 化学学报, **2006**, 64(7), 679.)
- 16 Xie, M.-X.; Xu, X.-Y.; Wang, Y.-D.; Liu, Y. *Acta Chim. Sinica* **2005**, 63(22), 2055 (in Chinese).  
(谢孟峡, 徐晓云, 王英典, 刘媛, 化学学报, **2005**, 63(22), 2055.)
- 17 Chen, G.-Z.; Huang, X.-Z.; Xu, J.-G.; Zheng, Z.-Z.; Wang, Z.-B. *Fluorescence Analytical Methods*, Science Press, Beijing, **1990**, p. 122 (in Chinese).  
(陈国珍, 黄贤智, 许金钩, 郑朱梓, 王尊本, 荧光分析法, 科学出版社, 北京, **1990**, p. 122.)
- 18 Yang, M.-M.; Yang, P.; Zhang, L.-W. *Chin. Sci. Bull.* **1994**, 39(1), 31 (in Chinese).  
(杨曼曼, 杨频, 张立伟, 科学通报, **1994**, 39(1), 31.)
- 19 Huang, B.; Zou, G.-L.; Yang, T.-M. *Acta Chim. Sinica* **2002**, 60(10), 1867 (in Chinese).  
(黄波, 邹国林, 杨天鸣, 化学学报, **2002**, 60(10), 1867.)
- 20 Song, Y.-M.; Wu, J.-X. *Chinese J. Inorg. Chem.* **2006**, 22(12), 2165 (in Chinese).  
(宋玉民, 吴锦绣, 无机化学学报, **2006**, 22(12), 2165.)

(A0803241 LI, L. T.; FAN, Y. Y.)