

白杨素衍生物的合成和晶体结构及与 DNA 的作用

张尊听^{*}, 陈莉莉

(陕西师范大学 化学与材料科学学院, 陕西 西安 710062)

摘要: 以白杨素为先导化合物经羟甲基化反应合成中间体 5,7-二羟基-6,8-二羟甲基黄酮(1),进而合成了 5,7-二羟基-6,8-二(甲氧基甲基)黄酮(2),5,7-二羟基-6,8-二(乙氧基甲基)黄酮(3),5,7-二羟基-6,8-二(丁氧基甲基)黄酮(4),5,7-二羟基-6,8-二(戊氧基甲基)黄酮(5)和 5-羟基-7-甲氧基-6,8-二(乙氧基甲基)黄酮(6);采用 IR, ¹H NMR, ¹³C NMR 和元素分析对 1~6 进行了表征,同时用 X 射线单晶衍射法对 6 进行了晶体结构测定。利用荧光法分别对 1~4 与 CT-DNA 的作用进行了研究,根据 Stern-Volmer 方程,它们对 EB-DNA 体系的荧光猝灭常数分别为 $K_{q1} = 9.71 \times 10^3 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$, $K_{q2} = 2.25 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$, $K_{q3} = 1.03 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$ 和 $K_{q4} = 7.96 \times 10^3 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$ 。1~4 与白杨素相比,对 DNA 更具亲和力,为开发更有效的黄酮类化合物提供了实验依据。

关键词: 白杨素;羟甲基化;合成;晶体结构;CT-DNA

中图分类号: R916.2 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2007)05-0492-05

Synthesis of chrysin derivatives and their interaction with DNA

ZHANG Zun-ting^{*}, CHEN Li-li

(School of Chemistry and Materials Science, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062, China)

Abstract: Using chrysin as a leading compound, intermediate 5,7-dihydroxy-6,8-bis(hydroxymethyl) flavone (1) was synthesized by hydroxymethylation. The intermediate reacted with different alcohols to afford 5,7-dihydroxy-6,8-bis(methoxymethyl) flavone (2), 6,8-bis(ethoxymethyl)-5,7-dihydroxyflavone (3), 6,8-bis(butoxymethyl)-5,7-dihydroxyflavone (4), 6,8-bis(pentyloxymethyl)-5,7-dihydroxy flavone (5) and 6,8-bis(ethoxymethyl)-5-hydroxy-7-methoxyflavone (6). These compounds were characterized by IR, ¹H NMR, ¹³C NMR and element analysis. The crystal structure of 6 was determined by X-ray crystal diffraction. The interaction of the derivatives with CT-DNA was studied by fluorescent spectroscopy. According to the Stern-Volmer equation, the quenching constants of the compounds 1-4 were measured, separately, they were $K_{q1} = 9.71 \times 10^3 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$, $K_{q2} = 2.25 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$, $K_{q3} = 1.03 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$ and $K_{q4} = 7.96 \times 10^3 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$. Compounds 1-4 showed higher binding affinity with DNA than chrysin did. The results provided the experimental basis for developing a more effective flavonoid and worthing further thoroughly study.

Key words: chrysin; hydroxymethylation; synthesis; crystal structure; CT-DNA

黄酮类化合物是许多常用中草药的有效成分,具有广泛的药理活性,如:抗心脑血管缺血、抗心律失常、抗自由基、镇痛、保护肝脏、抗病毒、抗肿瘤等^[1,2]。它们在体内副作用较小,但活性比较弱^[3]。白杨素(chrysin),又名白杨黄素,广泛存在于自然界且生物

活性较高,具有显著的抗氧化^[1]、抗病毒^[1]、抗菌、抗过敏^[1]、抗癌^[2]、抗高血压、抗糖尿病、解痉^[4]和血管舒张^[5]等多种药理作用。为了丰富黄酮类化合物的性质和种类,并改善其疗效,本文以白杨素为先导化合物,与甲醛和氢氧化钾在甲醇中反应得到了白杨素羟甲基化产物:5,7-二羟基-6,8-二羟甲基黄酮(1)。然后,以1为中间体合成了5,7-二羟基-6,8-二(甲氧基甲基)黄酮(2),5,7-二羟基-6,8-二(乙氧基甲基)黄酮(3),5,7-二羟基-6,8-二(丁氧基

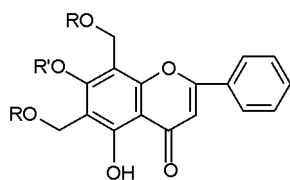
收稿日期: 2006-08-29.

基金项目: 陕西省自然科学基金资助项目(2004B19)。

^{*} 通讯作者 Tel: 86-29-85303940, Fax: 86-29-85307774,

E-mail: zhangzt@snnu.edu.cn

甲基)黄酮(4), 5, 7-二羟基-6, 8-二(戊氧基甲基)黄酮(5)和 5-羟基-7-甲氧基-6, 8-二(乙氧基甲基)黄酮(6)(图 1)。1~6 为新化合物, 其结构经 IR, $^1\text{H NMR}$, $^{13}\text{C NMR}$ 和元素分析表征, 理化数据见表 1, 光谱数据见表 2。采用单晶 X 射线衍射结构分析方法对化合物 6 进行了晶体结构测定。生物学实验表明, DNA 是一些抗癌药物在体内的主要靶分子, 药物分子与 DNA 结合后, 能阻碍 DNA 的复制, 使癌细胞的生长得到有效抑制。研究小分子药物与 DNA 的作用方式, 对从分子水平上了解抗癌药物的作用机制有理论意义, 同时也能为设计开发新型抗癌药物提供有价值的信息。本文采用荧光手段用光谱探针溴化乙锭(EB)研究了化合物 1~4 与 CT-DNA 的作用, 结果表明: 化合物 1~4 对 DNA 的亲合力明显强于白杨素, 为该类药物开发



1: $R' = \text{H}$, $R = \text{H}$; 2: $R' = \text{H}$, $R = \text{CH}_3$; 3: $R' = \text{H}$, $R = \text{C}_2\text{H}_5$;
4: $R' = \text{H}$, $R = n\text{-C}_4\text{H}_9$; 5: $R' = \text{H}$, $R = n\text{-C}_5\text{H}_{11}$; 6: $R' = \text{CH}_3$, $R = \text{C}_2\text{H}_5$

Figure 1 Structures of compounds 1 - 6

成新药提供了一定的实验依据。

结果与讨论

1 化合物 6 的晶体结构测定和描述

1.1 晶体结构测定 配制适量化合物 6 的 95%乙醇溶液, 室温下静置 3 d, 析出淡黄色针状晶体。取尺寸为 $0.08\text{ mm} \times 0.19\text{ mm} \times 0.42\text{ mm}$ 的单晶进行衍射实验, 采用 Bruker Smart-1000 CCD 型单晶衍射仪。实验管流: 30 mA, 管压: 50 kV。化合物 6 ($\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{O}_6$) 属于三斜晶系, 空间群 $P-1$, 晶胞参数 $a = 0.8765(2)\text{ nm}$, $b = 1.1280(3)\text{ nm}$, $c = 1.1681(3)\text{ nm}$, $\alpha = 61.483(4)^\circ$, $\beta = 89.966(5)^\circ$, $\gamma = 74.638(5)^\circ$, $V = 0.9677(4)\text{ nm}^3$, $\mu = 0.096\text{ mm}^{-1}$, $D_c = 1.319\text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$, $Z = 2$, $F(000) = 408$, $R = 0.0455$, $\omega R = 0.0935$ 。使用 MoK α 辐射, 石墨单色器, ω 扫描, 扫描范围在 $2.01^\circ < \theta < 25.10^\circ$ 内, 实验温度为 $296(2)\text{ K}$ 。共收集到 4 996 个衍射点, 其中 3 398 个独立衍射点 [$I \geq 2\sigma(I)$] 为可观察点。使用最小二乘修正结构, 修正参数为 258, 全部强度数据经 LP 因子校正和经验吸收校正。由直接法解析结构, 由可观察点计算的最终偏离因子 $R = 0.0455$, $\omega R = 0.0935$ 。全部计算均用 Shexs 97 程序完成, 所得部分键长和键角列于表 3。

Table 1 Structures and experimental data of the chrysin derivatives

| No. | Molecular formula | Appearances | mp/°C | Yield/% | Elemental analysis/% | | |
|-----|--|----------------------|---------------|---------|----------------------|------------|--------|
| | | | | | C | H | MW |
| 1 | $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_6$ | Pale Yellow crystals | 214.0 - 215.5 | 85 | 64.97(64.62) | 4.46(4.32) | 314.30 |
| 2 | $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_6$ | Pale Yellow crystals | 185.0 - 186.5 | 92 | 66.67(66.35) | 5.26(5.06) | 342.35 |
| 3 | $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_6$ | Yellow crystals | 163.5 - 164.5 | 90 | 68.11(67.81) | 5.94(5.83) | 370.40 |
| 4 | $\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{O}_6$ | Yellow crystals | 125.0 - 126.5 | 83 | 70.42(70.09) | 7.04(6.89) | 426.51 |
| 5 | $\text{C}_{27}\text{H}_{34}\text{O}_6$ | Yellow crystals | 88.5 - 90.5 | 80 | 71.36(71.09) | 7.49(7.36) | 454.56 |
| 6 | $\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{O}_6$ | Khaki crystals | 141.0 - 142.5 | 91 | 68.75(68.43) | 6.25(6.12) | 384.43 |

Table 2 Spectral data of the chrysin derivatives

| No. | IR (KBr, cm^{-1}) | $^1\text{H NMR}$ (δ) |
|-----|--|---|
| 1 | 3 453, 3 241, 3 022, 2 911, 2 728, 1 780, 1 645, 1 583, 1 446, 1 341, 1 242, 1 131, 1 023, 1 001, 850, 781 | (DMSO- d_6 , 300 MHz), 13.46(s, 1H), 10.19(s, 1H), 8.10(m, 2H), 7.63(m, 3H), 7.05(s, 1H), 4.70(s, 2H), 4.50(s, 2H) |
| 2 | 3 454, 3 248, 2 978, 1 645, 1 572, 1 421, 1 323, 1 225, 1 089, 782, 653, 569 | (CDCl $_3$, 300 MHz), 13.26(s, 1H), 9.32(s, 1H), 7.90(m, 2H), 7.55(m, 3H), 6.68(s, 1H), 4.90(s, 2H), 4.82(s, 2H), 3.51(s, 3H), 3.49(s, 3H) |
| 3 | 3 458, 3 260, 2 988, 1 641, 1 021, 582, 530, 498 | (CDCl $_3$, 300 MHz), 13.23(s, 1H), 9.59(s, 1H), 7.90(m, 2H), 7.54(m, 3H), 6.68(s, 1H), 4.88(m, 4H), 3.70(m, 4H), 1.31(m, 6H) |
| 4 | 3 456, 3 233, 2 975, 2 879, 1 654, 1 585, 1 448, 1 370, 1 238, 1 101, 1 019, 853, 767, 685, 581 | (DMSO- d_6 , 300 MHz), 13.40(s, 1H), 10.15(s, 1H), 8.09(m, 2H), 7.62(m, 3H), 7.05(s, 1H), 4.73(s, 1H), 4.53(s, 2H), 3.50(m, 12H), 1.11(m, 6H) |
| 5 | 3 448, 3 241, 2 985, 2 868, 1 647, 1 563, 1 461, 1 362, 1 228, 1 108, 1 027, 875, 782, 696, 593 | (CDCl $_3$, 300 MHz), 13.23(s, 1H), 9.49(s, 1H), 7.89(m, 2H), 7.54(m, 3H), 6.68(s, 1H), 4.89(s, 4H), 3.42(m, 16H), 1.10(m, 6H) |
| 6 | 3 440, 2 968, 1 875, 1 644, 1 598, 1 450, 1 354, 1 212, 1 101, 982, 852, 770 | (CDCl $_3$, 300 MHz), 13.24(s, 1H), 7.92(m, 2H), 7.56(m, 3H), 6.72(s, 1H), 4.76(s, 2H), 4.62(s, 2H), 4.04(s, 3H), 3.68(m, 4H), 1.28(m, 6H) |

Table 3 Selected bond lengths and bond angles(nm, °)

| Chemical bond | Bond length | Chemical bond | Chemical angle |
|---------------|-------------|------------------|----------------|
| C(6)-C(20) | 0.149(3) | O(1)-C(1)-C(10) | 112.0(2) |
| C(8)-C(16) | 0.149(3) | C(9)-C(4)-C(3) | 122.2(2) |
| C(16)-O(4) | 0.142(2) | O(4)-C(16)-C(8) | 109.3(2) |
| C(17)-O(4) | 0.143(3) | O(4)-C(17)-C(18) | 114.2(2) |
| C(17)-C(18) | 0.147(3) | O(6)-C(20)-C(6) | 109.7(2) |
| C(19)-O(5) | 0.144(3) | C(22)-C(21)-O(6) | 112.1(2) |
| C(20)-O(6) | 0.142(2) | C(7)-O(5)-C(19) | 113.8(2) |
| C(21)-O(6) | 0.142(3) | C(20)-O(6)-C(21) | 111.4(2) |

1.2 晶体结构描述 化合物 6 的分子结构如图 2 所示,它由一个苯并吡喃酮环、一个苯环、二个乙氧甲基、一个甲氧基和一个羟基组成。黄酮结构的键长和键角与文献^[6]报道的黄酮结构相似。黄酮结构 A 环 (C₄-C₉)和 C 环 (O₁, C₁-C₅)原子接近共平面(夹角为 0.7°), B 环 (C₁₀-C₁₅)平面和 A/C 环组成的平面夹角为 4.8°, 故整个黄酮分子骨架基本共平面。化合物 6 的晶体结构中不存在分子内氢键: O₃ / H₃ --- O₂ 氢键键长为 0.184 4 nm, 键角为 148.0°。

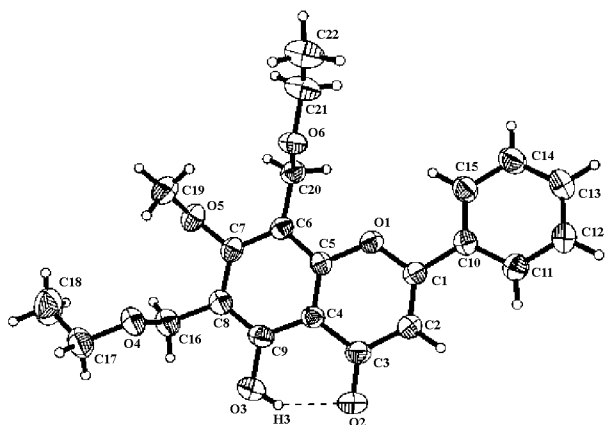


Figure 2 Molecular structure of compound 6

图 3 所示,在化合物 6 的晶体结构中两个黄酮分子之间存在芳香堆积作用,它们为中心对称关系。一分子黄酮的 B 环 (C₁₀-C₁₅)和 C 环 (O₁, C₁-C₅)分别与相邻分子的 C 环和 B 环堆积,其中 Cg1 和 Cg2 分别位于 (x, y, z)分子的 B 环和 C 环中心, Cg1 #和 Cg2 #分别位于 (1-x, 1-y, 1-z)分子的 C 环和 B 环中心。Cg1 到 Cg1 #和 Cg2 到 Cg2 #的距离均为 0.370 nm, 小于文献报道的芳环堆积距离 (0.380 nm), 表明存在 π...π 堆积作用。

2 白杨素及化合物 1~4 与 DNA 的作用

2.1 白杨素及化合物 1~4 对 EB-DNA 体系荧光强度的影响 EB 本身的荧光很弱,但嵌入 DNA 双螺旋结构后荧光强度显著增强。如果在 EB-DNA 体

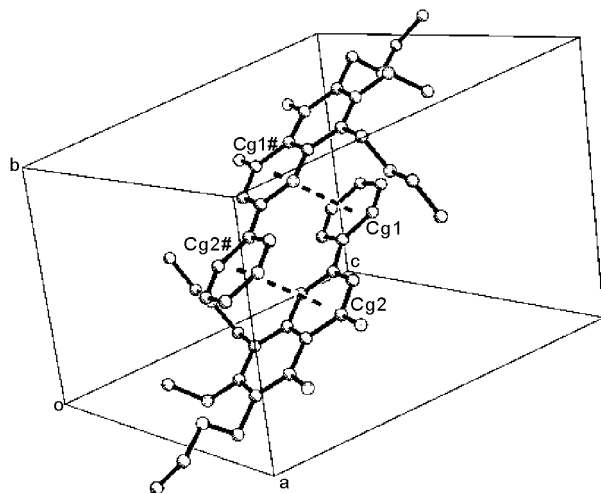


Figure 3 π...π Stacking in the crystal structure of 6. H atoms have been omitted for clarity. Symmetric code: # 1-x, 1-y, 1-z

系中加入的有机小分子 M 也能够与 DNA 发生类似于 EB 的嵌入作用,这个小分子就会与 EB 竞争同 DNA 的结合位点,将 EB 从 EB-DNA 复合物中挤出, EB-DNA 的荧光强度将显著降低。根据李志良等^[7]报道的荧光筛选法标准:当 EB-DNA 体系荧光减弱 50% 以上,且 C_M/C_{DNA} < 100 时,认为 M 与 DNA 发生了显著作用。白杨素及化合物 1~4 对 EB-DNA 体系荧光强度的影响结果见图 4,随着白杨素浓度的增加几乎没有引起体系荧光光谱的变化(图 4A);而随着化合物 1~4 浓度的变化,体系荧光强度随 (C₁₋₄/C_{DNA}) 比值 R 的增大而逐渐减小,说明化合物 1~4 的存在破坏了 EB 对 DNA 的嵌插作用。为此,令 F 为加入猝灭剂后 EB-DNA 体系的荧光强度, F₀ 为未加入猝灭剂时 EB-DNA 体系的荧光强度,即 RF = F/F₀。实验结果为:化合物 1 在 R = 30 时, RF = 49.1% < 50%; 化合物 2 在 RC = 20 时, RF = 42.9% < 50%; 化合物 3 在 RC = 30 时, RF = 48.2% < 50%; 化合物 4 在 RC = 30 时, RF = 64.2%, 可认为化合物 1~3 与 DNA 发生了显著作用。并且化合物 1~4 对 DNA 的亲合力均明显强于白杨素,其亲合力作用由强到弱的顺序为: 化合物 2, 化合物 3, 化合物 1, 化合物 4 和白杨素。化合物 1~4 的加入,取代了 EB-DNA 体系中相当数量的 EB 分子,导致 EB-DNA 体系荧光强度的较大降低,说明化合物 1~4 与 EB 发生了相当程度的竞争反应。在图 4D 和 4E 中 EB-DNA 体系的荧光强度不仅降低了,还出现了一个等光密度点和一个新的荧光峰,表明化合物 3 和 4 的加入产生了新的复合体系^[8]。

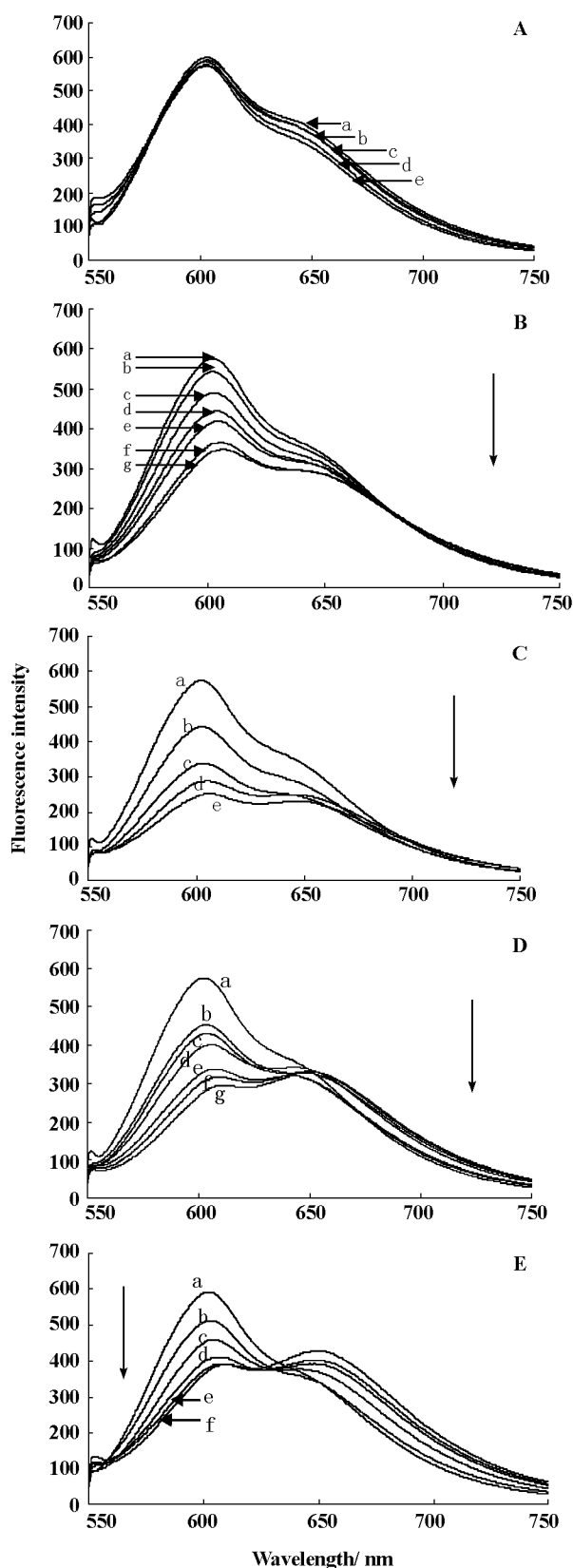


Figure 4 Effect of chrysin and 1 - 4 on the emission spectra [EB-DNA system in the absence (a) and presence (b , c , d , e , f , g) of increasing of $3.0 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ chrysin and 1 - 4 (0.5 mL per scan)] (A) chrysin, (B) 1, (C) 2, (D) 3, (E) 4

2.2 化合物 1 ~ 4 对 EB-DNA 荧光猝灭方式的判断 测定不同浓度化合物 1 ~ 4 存在下 EB-DNA 体系的荧光强度,由 F_0/F (F_0 和 F 分别为猝灭剂不存在和存在时的荧光强度)对猝灭剂浓度 $[Q]$ 作图,结果见图 5。根据经典的荧光猝灭理论^[9],无论是动态猝灭或静态猝灭,均应得到一条直线。由图 5 可见,以化合物 1 ~ 4 的浓度对 EB-DNA 体系的荧光强度作图,实验得到的猝灭曲线均符合经典的猝灭理论,化合物 1 ~ 4 与 DNA 的作用只存在一种主要的作用方式。由 Stern-Volmer 方程得出化合物 1 ~ 4 与 DNA 的键合常数和相关系数分别为: $K_{q1} = 9.71 \times 10^3 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$, $R_1 = 0.9724$; $K_{q2} = 2.25 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$, $R_2 = 0.9791$; $K_{q3} = 1.03 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$, $R_3 = 0.9855$; 和 $K_{q4} = 7.96 \times 10^3 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$, $R_4 = 0.9796$ 。初步推测化合物 1 ~ 4 可能嵌入到 DNA 碱基对中取代已嵌入的 EB 分子。又根据其结合常数比以插入方式与 DNA 结合的溴化乙锭、道诺霉素低 1 ~ 2 个数量级^[10],说明化合物 1 ~ 4 并非以经典的插入方式作用。这可能是由于黄酮骨架的平面性,化合物 1 ~ 4 与 DNA 作用方式为部分插入所致。

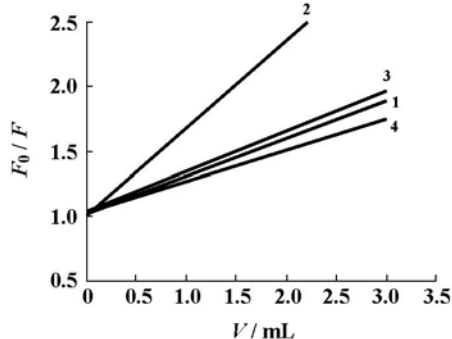


Figure 5 Fluorescence quenching of EB-DNA system by 1 - 4 ($[Q] = V \times 3.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)

结论

本研究共合成 6 个新的白杨素衍生物,并用 IR, ^1H NMR, ^{13}C NMR 和元素分析进行了结构表征;采用单晶 X 射线衍射结构分析方法对化合物 6 进行了晶体结构测定。白杨素衍生物的合成丰富了黄酮化合物的种类,其中 1 ~ 4 与 DNA 的结合为中等强度,均强于白杨素,为白杨素衍生物开发成新药提供了一定的实验依据。

实验部分

白杨素(购于江苏省南通利天化工有限公司,纯度 > 98%);三羟甲基氨基甲烷(Tris, Sigma 公司);小牛胸腺 DNA(CT-DNA,华美生物工程公司),

取适量 CT-DNA溶于缓冲溶液中,浓度以吸收系数 $\varepsilon(p)_{260} = 6\ 600$ 确定^[11],为 $3.14 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。经 UV光谱检测 $A_{260}/A_{280} > 1.8$,表明纯度符合要求^[11],DNA储备液置于冰箱中 $4\ ^\circ\text{C}$ 保存;溴化乙锭(EB)储备液的浓度为 $3.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ (华美生物工程公司),由缓冲溶液配制;缓冲溶液为 $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Tris- $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl, pH = 7.1 的溶液。其他试剂均为分析纯,水为双蒸水。

WRS-1 数字熔点仪, Carlo Erba 1106 型元素分析仪, Niclet 170 SX FT-IR 红外光谱仪(KBr压片), Bruker AM-300 超导核磁共振仪(TMS作内标), 970-CRT 荧光分光光度计(上海)。

1 化合物 1~4 的合成

化合物 1 白杨素 10.0 g, 甲醇 100 mL, 加入 10% KOH 甲醇溶液 100 mL, 搅拌并加入 37% HCHO 水溶液 12.0 mL, 在 $15\ ^\circ\text{C}$ 下搅拌 40 h。再用 5% HCl 酸化至 pH = 5, 倾入 1 L 水中, 有淡黄色沉淀析出, 抽滤该沉淀, 并用蒸馏水淋洗至中性, 以甲醇重结晶得化合物 1。

化合物 2 化合物 1 1.0 g, 甲醇 20 mL, 搅拌均匀后于反应过程中分批次共加入浓盐酸 10 mL, 水浴加热回流 3 h, 冷却, 倾入 100 mL 水中, 有淡黄色沉淀析出, 抽滤该沉淀, 用蒸馏水淋洗至中性。用甲醇重结晶得化合物 2。

化合物 3 制备方法同化合物 2 的合成, 乙醇做溶剂代替甲醇。用 95% 乙醇重结晶得化合物 3。

化合物 4 化合物 1 1.0 g, 丁醇 10 mL, 搅拌均匀后于反应过程中分批次共加入 15 mL 浓盐酸, $70\ ^\circ\text{C}$ 水浴中搅拌 3 h, 冷却, 倾入 50% 乙醇 30 mL 中, 有淡黄色沉淀析出, 抽滤该沉淀, 用蒸馏水淋洗至中性。用混合溶剂(乙醇-氯仿 2:1)重结晶得化合物 4。¹³C NMR (DMSO- d_6) δ : 182.8, 163.6, 162.2, 159.9, 155.7, 132.6, 131.3, 129.7, 126.9, 126.8, 108.5, 105.5, 104.1, 65.4, 60.7, 60.4, 60.1, 53.4, 19.0, 15.6。

化合物 5 制备方法同化合物 4 的合成, 戊醇做溶剂代替丁醇得化合物 5。¹³C NMR (CDCl₃) δ : 182.8, 163.7, 162.6, 158.7, 131.8, 131.6, 129.1, 126.3, 105.9, 105.6, 104.5, 103.2, 77.4, 77.0, 76.6, 71.7, 71.5, 70.9, 65.4, 61.6, 58.1, 29.4, 29.2, 28.4, 28.2, 22.5, 14.0。

化合物 6 化合物 3 1.0 g, 丙酮 30 mL, 硫酸二甲酯 2.0 mL 与 30% KOH 水溶液 1 mL 的混合物在常温下搅拌 40 h 后倾入 150 mL 水中, 静置过夜, 有

淡黄色沉淀析出, 抽滤该沉淀, 用蒸馏水淋洗至中性。95% 乙醇重结晶得化合物 6。

2 化合物 1~4 与 EB-DNA 体系作用荧光光谱的测定

称取一定量的白杨素和化合物 1~4, 白杨素和化合物 1 用甲醇溶解, 化合物 2~4 均用丙酮-水 1:1 溶液溶解, 配制浓度均为 $3.0 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的溶液。在 10 mL 刻度试管中分别加入 $3.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ EB 溶液 1 mL, $3.14 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ DNA 溶液 1 mL, 室温下摇匀反应 30 min 后, 再分别加入不同量的待测化合物, 30 min 后, 用缓冲溶液定容至 10 mL, 以激发波长 525 nm, 狭缝 $E_x = E_m = 10 \text{ nm}$, 在 550~750 nm 扫描其荧光发射谱。因为化合物 5 和 6 没有找到合适的溶剂, 在加入缓冲溶液后均有沉淀生成, 故没有对其进行荧光发射谱图的扫描。

References

- [1] Shao ZH, Wang GX. The superdelocalizability of flavonoids [J]. J Mol Sci (分子科学与化学研究), 1985, 5: 177 - 182.
- [2] Harborne JB, Williams CA. Advances in flavonoid research since 1992 [J]. Phytochemistry, 2000, 55: 481 - 504.
- [3] Sahyayoonhy N, Wang TY. Differential effects of dietary phyto-oestrogens daidzein and equol on human breast cancer MCF-7 cells [J]. Eur J Cancer, 1997, 14: 2384 - 2389.
- [4] Jiao JJ, Zhang Y. Advancement of flavonoids on prevention and cure of diabetes and diabetic complications [J]. Chin Pharm J (中国药学杂志), 2006, 41: 481 - 484.
- [5] Chen ZW, Hu YZ, Wu HH, et al. Synthesis and vasorelaxation action of flavonoids [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2005, 40: 1001 - 1007.
- [6] Waller MP, Hibbs DE, Overgaard J, et al. Flavone [J]. Acta Crystallogr Sect E, 2003, 59, o767 - o768.
- [7] Li ZL, Chen JH, Zhang KC, et al. Study on the fluorescent method of preliminary filtration Schiff base non-platinum anticancer complex [J]. Sci Sin B (中国科学 B 辑), 1991, 11: 1193 - 1200.
- [8] Song YM, Kang JW, Lu XQ, et al. Studies on the interactions between morin and its Cu(II)-, Zn(II)-complexes with DNA [J]. Chem J Chin Univ (高等学校化学学报), 2003, 24: 249 - 251.
- [9] Yang P. Introduction to Bioinorganic Chemistry (生物无机化学导论) [M]. Xi'an: Xi'an Jiao Tong University Press, 1991: 155 - 156.
- [10] Satyanarayana S, Dabrowiak JC, Chaires JB. Tris(phenanthroline) ruthenium(II) enantiomer interactions with DNA: mode and specificity of binding [J]. Biochemistry, 1992, 31: 9219 - 9319.
- [11] Pyle AM, Rehmman JP, Messhoyner CV, et al. Mixedligand complexes of ruthenium: factors governing binding to DNA [J]. J Am Chem Soc, 1989, 111: 3051 - 3055.