

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИМИ, СПЕКТРОСКОПИЧЕСКИМИ И БИОЛОГИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ ДВУХ ШИФФОВЫХ ОСНОВАНИЙ, ПОЛУЧЕННЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕМ ДВУХ РАЗЛИЧНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ГИДРОКСИБЕНЗАЛЬДЕГИДА И СУЛЬФАМЕТИЗОЛА: ИХ СИНТЕЗ, ХАРАКТЕРИСТИКИ, *in vitro* ПРОТИВОГРИБКОВАЯ АКТИВНОСТЬ И СВЯЗЫВАНИЕ С ДНК ИЗ ЗОБНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ТЕЛЕНКА

© 2019 г. Э. Бичер^а, *, В. Пехливан^а, Е. Г. Бекироглу^б

^аУниверситет Ондокуз Майис, Атакум-самсун, 55139 Турция

^бУниверситет Ондокуз Майис, Бафра-самсун, 55400 Турция

*e-mail: ebicer@omu.edu.tr

Поступила в редакцию 15.06.2018 г.

После доработки 11.08.2018 г.

Принята к публикации 20.09.2018 г.

Шиффовы основания синтезированы по реакции сульфаметизола и двух различных производных гидроксibenзальдегида (2,3-дигидроксibenзальдегид и 2,4,6-тригидроксibenзальдегид). Они охарактеризованы методами элементного анализа, ¹H-ЯМР и ИК-спектроскопии. На основании полученных данных предположено, что 4,6-дигидроксисалицилальдегид реагирует как с первичными, так и с вторичными аминогруппами сульфаметизола. Способность синтезированных Шиффовых оснований к связыванию с ДНК из зубной железы теленка при физиологическом значении рН (7.4) исследована методами циклической вольтамперометрии и спектроскопии в УФ- и видимой областях спектра. Экспериментальные результаты подтвердили, что Шиффовы основания могут связываться с ДНК из зубной железы теленка посредством электростатических сил в стехиометрии 1 : 1. Была исследована противогрибковая активность синтезированных Шиффовых оснований по отношению к *Candida albicans* (АТСС 10231), и определены минимальные концентрации ингибитора. У Шиффова основания 1, синтезированного на основе 2,3-дигидроксibenзальдегида, эта минимальная концентрация ингибитора меньше, чем у Шиффова основания 2, синтезированного на основе 2,4,6- тригидроксibenзальдегида. Несмотря на то, что Шиффово основание 2 связывается с ДНК из зубной железы теленка с большим сродством, чем Шиффово основание 1, оно менее эффективно против *Candida albicans*, чем Шиффово основание 1.

Ключевые слова: ДНК из зубной железы теленка, взаимодействие, производные салицилальдегида, Шиффовы основания, сульфаметизол

DOI: 10.1134/S0424857019050049

ВВЕДЕНИЕ

Шиффовы основания получают, как правило, по реакции первичных аминов с карбонильными соединениями [1, 2]. Лекарства, содержащие сульфонамидную группу, могут потенциально быть использованы для лечения ряда болезней. Шиффовы основания, синтезированные из сульфонамидов, привлекают большое внимание биохимиков [3, 4]. Особенно большое значение для лечения болезней имеет синтез более эффективных фармацевтических препаратов.

ДНК жизненно важна для живых организмов, благодаря передаче генетического кода при син-

тезе белков. Исследование взаимодействия лекарств с ДНК имеет большое значение в изучении их биологической активности; в последнее десятилетие это сделалось привлекательной областью исследований [5].

К тому же взаимодействия лекарств с ДНК очень важны для проектирования и синтеза новых лекарств, нацеленных на ДНК. Эффективность лекарств зависит как от типа процессов связывания, так и от их сродства [6, 7].

Электрохимические методы часто используют при исследовании взаимодействий между большими молекулами и ДНК [8]. Для оценки

механизма взаимодействий особенно полезны вольтамперометрические методы [9–13].

Сульфаметизол – сульфонамидный антибиотик [14]. сульфонамиды – это синтетические бактериостатические антибиотики с широким спектром действия против большинства грамположительных и многих грамотрицательных организмов. сульфонамиды не эффективны в лечении вирусных инфекций [14]. Синтез и противогрибковую активность новых производных сульфаметизола исследовали в работе [15]. Было показано, что эти новые сульфониламидные производные обладают более высокой противогрибковой активностью *in vitro* по отношению к *C. albicans*, чем сульфаметизол [15]. В предшествующей работе [16] мы показали возможность синтеза Шиффовых оснований путем конденсации сульфаметизола с 3-метокси- и 5-нитросалицилальдегидами. Было исследовано их взаимодействие с ДНК из зубной железы теленка при физиологическом значении рН. В настоящей работе синтезированы Шиффовы основания 2,3-дигидроксibenзальдегида и 2,4,6-тригидроксibenзальдегида с сульфаметизолом. Они охарактеризованы методами элементного анализа, ^1H -ЯМР, ИК-спектроскопии с преобразованием Фурье и УФ-спектроскопии. В частности, мы уделили внимание интересному и необычному поведению 2,4,6-тригидроксibenзальдегида. Кроме того, методами вольтамперометрии и спектроскопии в УФ- и видимой частях спектра было исследовано связывание Шиффовых оснований с ДНК из зубной железы теленка при физиологическом значении рН (7.4).

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Приборы

Вольтамперометрические эксперименты проводили с помощью полярографического анализатора EG&G PAR 384B, укомплектованного стендом EG&G PARC 303A. Вольтамперограммы записывали в трехэлектродной ячейке с $\text{Ag}|\text{AgCl}|\text{KCl}_{\text{sat}}$ -электродом сравнения, противоэлектродом в виде платиновой проволоки и рабочим электродом в виде висящей ртутной капли. Перед каждым электрохимическим измерением ячейку продували азотом для удаления растворенного кислорода из раствора. Циклические вольтамперограммы анализировали с помощью программы ECDSOFT [17]. Значение рН измеряли рН-метром Jenway 3010.

Точку плавления Шиффовых оснований измеряли прибором Stuart Melting Point 30. Элементный анализ проводили на анализаторе LECO, CHNS-932, а спектры ^1H -NMR Шиффовых оснований снимали в $\text{DMCOO}-d_6$ на спектрометре Bruker Biospin (300 МГц), с использованием тетраметилсилана в качестве внутреннего стандарта,

в Центральной лаборатории Средневосточного технического университета (METU, Анкара, Турция). ИК-спектры с преобразованием Фурье снимали с помощью спектрометра Bruker Vertex 80V в области волновых чисел от 650 до 4000 cm^{-1} . Электронные спектры соединений получали на спектрометре Thermo Scientific Evolution Array EA-1301005 UV-Vis.

Реактивы

Сульфаметизол был приобретен у компании Sigma–Aldrich и использовался без дополнительной очистки. ДНК из зубной железы теленка была приобретена также у компании Sigma–Aldrich. 2,3-дигидроксibenзальдегид и 2,4,6-тригидроксibenзальдегид были приобретены у компании Merck. Все остальные реактивы имели квалификацию “ч. д. а.” и использовались без дополнительной очистки. Все растворы готовили на деионизованной сверхчистой воде (удельное сопротивление 18.2 МΩ см), которую получали на системе очистки воды MINI PURE DEST-UP. Если не указано иное, исходные растворы Шиффовых оснований 1 и 2 готовили ежедневно, растворяя их, соответственно, в горячем метаноле и смеси вода–диметилформамид (1 : 1 по объему), а затем разбавляли теми же растворителями до нужной концентрации. 0.02 М фосфатный буферный раствор (рН 7.4) готовили из 0.5 М раствора H_3PO_4 и доводили до нужного значения рН с помощью 0.5 М раствора NaOH.

2.5×10^{-4} М раствор ДНК из зубной железы теленка

Исходный раствор ДНК из зубной железы теленка готовили, растворяя нужное количество (1×10^{-3} г) ДНК в сверхчистой воде (50 мл), и хранили при температуре 4°C. Согласно описанному в литературе методу [18], результирующую концентрацию раствора ДНК из зубной железы определяли методом УФ-спектроскопии по поглощению света с длиной волны 260 нм, с использованием молярного коэффициента поглощения ($\epsilon_{260} = 6600 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ в расчете на нуклеиновое основание). Также по спектру поглощения раствора ДНК из зубной железы теленка установлено, что отношение поглощения при 260 нм к поглощению при 280 нм (A_{260}/A_{280}) превышает 1.8. Это означает, что ДНК из зубной железы теленка в достаточной мере свободно от белков [19–22].

Синтез и характеристики Шиффовых оснований

Для синтеза Шиффовых оснований смеси 2,3-дигидроксibenзальдегида и 2,4,6-тригидроксibenзальдегида с сульфаметизолом в нужных ко-

личествах (мольное отношение 1 : 1) кипятись с обратным холодильником в течение 4–5 ч при непрерывном помешивании в метаноле при 70–80°C (схема 1). По завершении реакции смесь давали остыть до комнатной температуры. Полученные твердые продукты красного

цвета отфильтровывали, промывали холодным метанолом и сушили. Удивительным образом, элементный анализ показал, что Шиффовы основания 1 и 2 были получены при мольном отношении альдегид : амин равном, соответственно, 1 : 1 и 2 : 1.

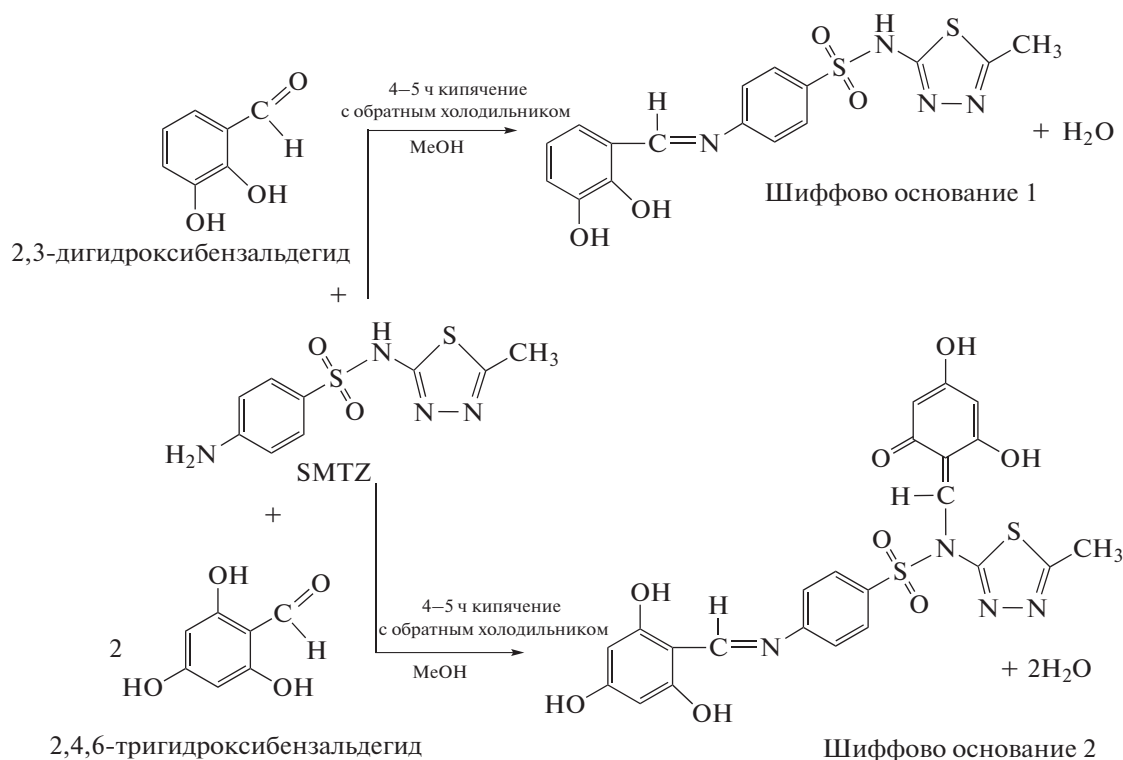


Схема 1. Предполагаемый механизм синтеза Шиффовых оснований 2,3-дигидроксибензальдегида и 2,4,6-тригидроксибензальдегида с сульфаметизолом.

Хорошо известно, что альдегиды реагируют как с первичными (RNH₂), так и с вторичными аминами (R₂NH), образуя карбиноламины, которые затем дегидратируются с образованием замещенных, соответственно, иминов и энаминов [23–25].

В настоящей работе отличие в стехиометрии реакции и устойчивости Шиффова основания 2 можно объяснить положением гидроксильных групп и структурой исходного альдегида. В дополнение можно сказать, что субъект совместно катализа метанол облегчает образование энамина [26]. С другой стороны, полученные Шиффовы основания демонстрируют различные таутомерные формы в растворе через гидроксильные группы [27–29].

Шиффово основание 1, выход: 74% (точка плавления 223–224°C); CHNS-анализ: найдено, %: С, 48.82; Н, 3.79; N, 14.54; S, 16.75; расчет, %: С, 49.22; Н, 3.61; N, 14.35; S, 16.43. ¹H ЯМР (тетраметилсилан, ДМСО-*d*₆) δ ppm: 2.2 (метильный

протон, С–CH₃), 6.5 – 7.9 (мультиплет, протоны ароматического ядра), 8.9 (синглет, –CH=N), 9.3 (синглет, фенольные протоны), 12.6 (яркий синглет, 1H, SO₂–NH–). Полосы в ИК-спектрах с преобразованием Фурье (см⁻¹): ν (O–H str) 3451; ν (N–H str) 3143; ν (–C=N–) 1622, 1548; ν (C–O) 1279; ν (C=N)_{кольцо} 1461; ν (C–N) 1223; ν_a (SO₂) 1318; ν_s (SO₂) 1151; ν (S–N) 916; ν (C–S) 837. Электронные спектры (λ_{max}/нм, в растворителе диметилформамиде): 260 (π → π*, ароматическое кольцо; ε₂₆₀ = 918 M⁻¹ см⁻¹) и 319 (n → π*, фенол–иминная форма; ε₃₁₉ = 745 M⁻¹ см⁻¹).

Шиффово основание 2, выход: 54% (точка плавления 275–276°C); CHNS-анализ: найдено, %: С, 47.48; Н, 4.15; N, 9.90; S, 11.08; расчет, %: С, 47.74; Н, 3.83; N, 9.68; S, 11.08. ¹H ЯМР (тетраметилсилан, ДМСО-*d*₆) δ ppm: 2.4 (метильный протон, С–CH₃), 5.5 – 8.0 (мультиплет, протоны ароматического ядра), 8.9 (синглет, –CH=N), 8.7 (дублет, =CH–NH), 8.2 (синглет, =CH–N<), 10.9

Таблица 1. Результаты измерений минимальной концентрации ингибитора (МИС) исходных соединений и синтезированных Шиффовых оснований

Соединение	МИС, мкг/мл
Сульфаметизол	32
2,3-Дигидроксибензальдегид	4
2,4,6-Тригидроксибензальдегид	8
Шиффово основание 1	8
Шиффово основание 2	16

и 11.1 (синглет, фенольные протоны). Полосы в ИК-спектрах с преобразованием Фурье (см^{-1}): ν (яркая, O–H str) 3350–3650; ν (C=O) водородная связь или (C=C) кольцо 1570; ν (–C=N–) 1611; 1544; ν (C–O) 1272; ν (C=N) кольцо 1442; ν (C–N) 1227; ν_a (SO₂) 1353; ν_s (SO₂) 1136; ν (S–N) 921; ν (C–S) 828. Электронные спектры (λ_{max} /нм, в растворителе диметилформамиде): 278, 298 ($\pi \rightarrow \pi^*$, ароматическое кольцо, фенол–иминная форма; $\epsilon_{278} = 15909 \text{ M}^{-1} \text{ см}^{-1}$, $\epsilon_{298} = 15669 \text{ M}^{-1} \text{ см}^{-1}$) и 518 ($n \rightarrow \pi^*$, кето–энаминовая форма; $\epsilon_{518} = 6706 \text{ M}^{-1} \text{ см}^{-1}$).

In vitro антимикробный анализ

Для того, чтобы определить антимикробную активность полученных веществ, мы использовали метод минимальной концентрации ингибитора (Minimum Inhibitor Concentration), в соответствии с директивой Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) в отношении образцов

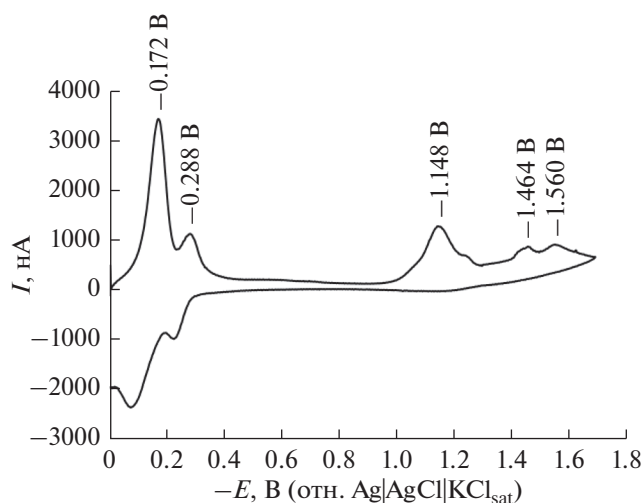


Рис. 1. Циклическая вольтамперограмма 1.67×10^{-4} М Шиффова основания 1 в 0.02 М фосфатном буферном растворе (рН 7.4). Другие экспериментальные условия: скорость развертки потенциала 500 мВ с^{-1} ; степень потенциала 4 мВ; средний размер Hg-капли; время установления равновесия 5 с.

дрожжей [30]. В качестве работающего микроорганизма был выбран стандарт – дрожжевой штамм *Candida albicans* ATCC 10231, в качестве контрольного соединения – сульфаметизол.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследования противогрибковой активности

В табл. 1 показаны результаты метода минимальной концентрации ингибитора (МИС) для исходного соединения и синтезированных Шиффовых оснований. Из таблицы видно, что эффективная активность 2,3-дигидроксибензальдегида и 2,4,6-тригидроксибензальдегида по отношению к *C. albicans* ATCC 10231 выше, чем активность сульфаметизола: значения МИС равны, соответственно, 4 и 8 мкг/мл по сравнению с 32 мкг/мл. Одновременно Шиффовы основания 1 и 2 показали значительную противогрибковую активность по отношению к *C. albicans*: значения МИС равны, соответственно, 8 и 16 мкг/мл. Сравнительные результаты МИС показывают, что Шиффово основание, синтезированное из 2,3-дигидроксибензальдегида (Шиффово основание 1), обладает большей ингибиторной активностью по отношению к *C. albicans*, чем Шиффово основание, синтезированное из 2,4,6-тригидроксибензальдегида (Шиффово основание 2).

Что касается механизма действия сульфонамидов и их производных на дрожжевые организмы, мы не нашли в литературе результатов соответствующих исследований. Однако, полученные в настоящей работе результаты показывают, что синтезированные производные (Шиффовы основания 1 и 2) эффективны по отношению к *Candida albicans*. Для полной оценки их эффективности потребуются дальнейшее экспериментальное исследование.

Исследования электрохимической активности

На циклической вольтамперограмме Шиффова основания 1 (рис. 1) на прямом ходе развертки потенциала можно видеть пять катодных пиков тока при потенциалах, соответственно, -0.172 В (I_c), -0.288 В (II_c), -1.148 В (III_c), -1.464 В (IV_c) и -1.560 В (V_c). Однако, при обратной развертке потенциала наблюдаются лишь два анодных пика при потенциалах -0.088 В (I_a) и -0.236 В (II_a). Для первого окислительно-восстановительного процесса разность потенциалов анодного и катодного пиков тока ($\Delta E_p = E_{p,a} - E_{p,c}$) равняется 84 мВ, а отношение анодного пикового тока ($I_{p,a}$) к катодному пиковому току ($I_{p,c}$) меньше 1. Эти результаты отличаются от параметров обратимого процесса ($\Delta E_p = 59/n \text{ мВ}$ и $I_{p,a}/I_{p,c} = 1$). Таким образом, первый окислительно-восстановительный процесс можно описать, как квазиобратимый одноэлектрон-

ный перенос, контролируемый адсорбцией. Для того, чтобы подтвердить адсорбционный контроль этого окислительно-восстановительного процесса на ртутном электроде, было изучено влияние скорости развертки потенциала (ν) на пиковые токи. Зависимость тока от скорости развертки потенциала для первого катодного пика показано, что в области от 200 до 1000 мВ с^{-1} существует линейная зависимость (рис. 2а), типичная для процессов, контролируемых адсорбцией [31–33]. Эта зависимость выражается следующим выражением линейной регрессии:

$$I_p \text{ (нА)} = 5.0088\nu \text{ (мВ с}^{-1}\text{)} - 514.63 \quad (1)$$

$$(R^2 = 0.9984).$$

В дополнение к этому, график зависимости $\lg I_p$ от $\lg \nu$ (рис. 2б) – это прямая с наклоном равным 1.3, что близко к теоретическому значению 1.0 для электродных процессов, контролируемых адсорбцией [31–33]. Получено следующее уравнение линейной регрессии:

$$\lg(I_p/\text{нА}) = 1.3301 \lg(\nu/\text{мВ с}^{-1}) - 0.3102 \quad (2)$$

$$(R^2 = 0.9963).$$

Для другого окислительно-восстановительного процесса разность потенциалов анодного и катодного пиков тока ($\Delta E_p = 52 \text{ мВ}$) очень близка к таковой для обратимого одноэлектронного перехода (59 мВ), и $I_{pa}/I_{pc} \cong 1$.

Центрами высокой электронной плотности в молекулярной структуре Шиффова основания являются атомы О в гидроксильных группах и атомы N в группе $-\text{CH}=\text{N}-$. Поэтому эти атомы – активные центры и, как следует ожидать, они более эффективны в связывании с поверхностью ртути. Принимая во внимание электрохимическое поведение полифенольных соединений [34] и сульфадиазола [35] на ртутном электроде в виде висающей капли при физиологическом значении pH, мы приписали катодные процессы при -0.172 и -0.288 В восстановлению, соответственно, комплекса Hg(II)–Шиффово основание 1 до комплекса Hg(I)–Шиффово основание 1 и этого последнего комплекса до Hg.

Потенциал -1.148 В и форма третьего катодного пика весьма похожи на таковые для восстановления групп $-\text{CH}=\text{N}-$ в гидроклориде буспирона [36] и лозартане [37]. Таким образом, можно утверждать, что пик тока при -1.148 В отвечает восстановлению иминогруппы в молекуле Шиффова основания 1.

В общем случае, арилсульфонамиды очень устойчивы по отношению к восстановлению; лишь при радикальных условиях связь S–N разрывается, и выделяется аммиак или анилин [38]. Однако, в водном растворе наблюдается иное поведение. В боратных буферных растворах на Hg-

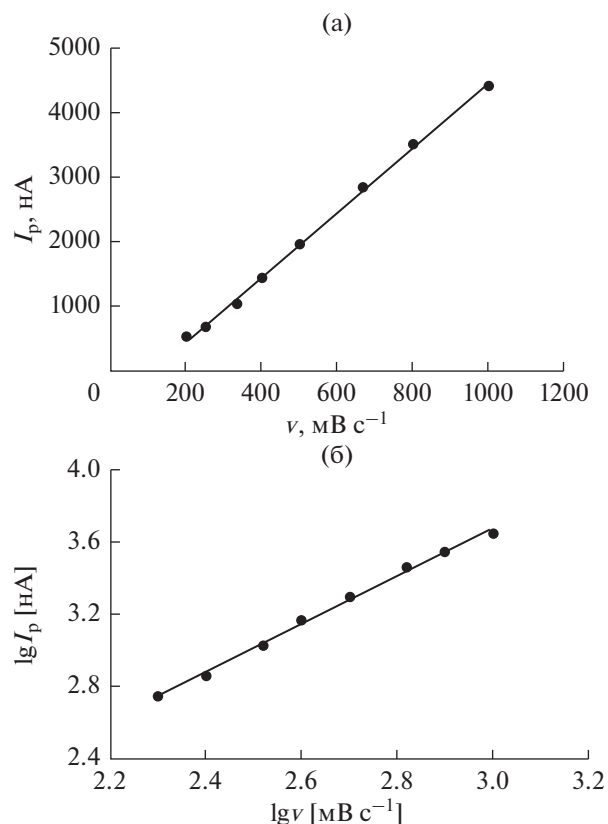
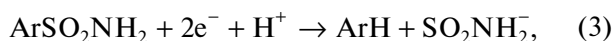


Рис. 2. Графики (а) зависимости I_p от ν , (б) зависимости $\lg I_p$ от $\lg \nu$ для катодного пика тока при -0.172 В на циклической вольтамперограмме Шиффова основания 1 в 0.02 М фосфатном буферном растворе ($\text{pH } 7.4$).

электродах разрыв происходит по связи ArS [39]. Реакция протекает по следующей схеме:



Разрыв по связи имеет место, если бензольное кольцо замещено на группы, отнимающие электрон [39].

Сообщалось, что потенциалы полуволны (по шкале насыщенного каломельного электрода) замещенных бензосульфонамидов в боратном буферном растворе ($\text{pH } 9.3$) лежат в области от -1.589 до -1.860 В . Для некоторых сульфонамидных соединений наблюдалась одна двухэлектронная волна в области pH от 7 до 12. При более низких значениях pH эта волна перекрывается с волной восстановления индифферентного электролита [38]. Небольшие пики тока при -1.464 и -1.560 В можно приписать, соответственно, восстановлению группы $\text{Ar}-\text{SO}_2\text{NH}-$ [38, 40] и каталитическому выделению водорода [41].

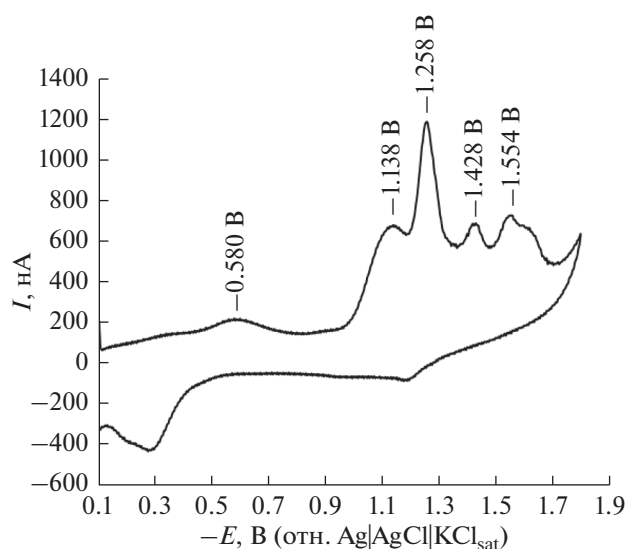


Рис. 3. Циклическая вольтамперограмма 9.10×10^{-5} М Шиффова основания 2 в 0.02 М фосфатном буферном растворе (рН 7.4). Другие экспериментальные условия: скорость развертки потенциала 500 мВ с^{-1} ; ступень потенциала 4 мВ; средний размер Hg-капли; время установления равновесия 5 с.

С другой стороны, на прямом ходе кривой Шиффова основание 2 дает пять катодных пиков тока при -0.580 , -1.138 , -1.258 , -1.428 и -1.554 В (рис. 3). На обратном ходе видны два анодных пика при -0.288 и -1.186 В.

При сравнении с вольтамперограммой Шиффова основания 1 видно, что Шиффова основание 2 не образует электроактивных солей с ртутью. Невысокая волна при -0.580 В, плечо при -1.138 В и анодные пики при -0.288 и -1.186 В могут быть следствием адсорбционных процессов Шиффова основания 2 и продуктов электродных процессов с его участием, протекающих на поверхности ртутного электрода. Подобно случаю Шиффова основания 1, другие пики тока (при -1.258 , -1.428 и -1.554 В) связаны с восстановлением групп $-\text{CH}=\text{N}-$, $-\text{SO}_2-\text{NH}-$ и каталитическим выделением водорода.

Исследование связывания с ДНК из зубной железы теленка

Вольтамперометрия. В условиях нашего эксперимента ДНК из зубной железы теленка электрохимически не активна на ртутном электроде в виде висящей капли в области прикладываемых потенциалов. Мы исследовали связывание Шиффовых оснований 1 и 2 с ДНК из зубной железы теленка в физиологическом растворе (рН 7.4) методом циклической вольтамперометрии. С этой целью мы выбрали катодные пики при -1.148 и -1.258 В, связанные с восстановлением иминных групп в

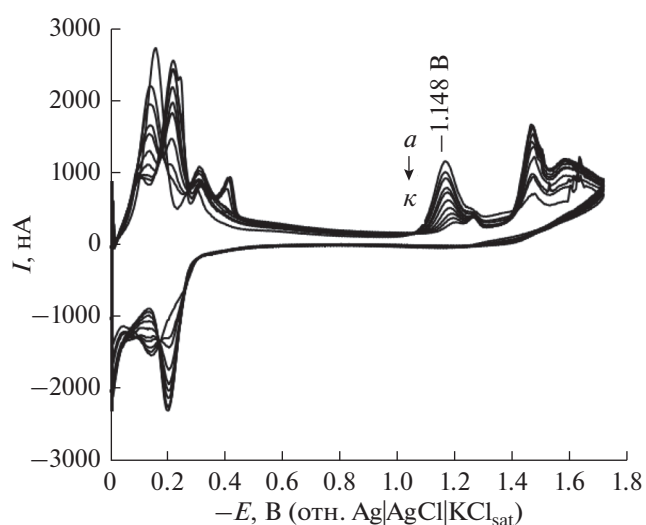


Рис. 4. Циклические вольтамперограммы 1.25×10^{-4} М Шиффова основания 1 в фосфатном буферном растворе (рН 7.4) в отсутствие (а) и в присутствии (б) 1.05×10^{-7} , (в) 3.14×10^{-7} , (г) 7.20×10^{-7} , (д) 1.02×10^{-6} , (е) 1.49×10^{-6} , (ж) 1.95×10^{-6} , (з) 2.82×10^{-6} , (и) 3.63×10^{-6} , (к) 4.38×10^{-6} М ДНК из зубной железы теленка. Другие экспериментальные условия: скорость развертки потенциала 500 мВ с^{-1} ; ступень потенциала 4 мВ; средний размер Hg-капли; время установления равновесия 5 с.

Шиффовых основаниях 1 и 2. На рис. 4 и 5 показаны изменения циклических вольтамперограмм Шиффовых оснований 1 и 2 в присутствии различных концентраций ДНК из зубной железы теленка. С ростом концентрации этой ДНК токи в главных пиках Шиффовых оснований 1 и 2 уменьшаются. Кроме того, потенциалы пиков тока Шиффова основания 1 сдвигаются к более отрицательным значениям (рис. 4). В то же время не наблюдается сколько-нибудь заметного сдвига потенциала пиков тока Шиффова основания 2 в присутствии ДНК из зубной железы теленка (рис. 5).

Это заметное снижение пикового тока можно объяснить образованием медленно диффундирующих макромолекулярных комплексов Шиффова основания — ДНК из зубной железы теленка, в результате чего уменьшается концентрация свободного Шиффова основания (ответственного за протекание тока) [21].

Характер взаимодействия между Шиффовыми основаниями и ДНК из зубной железы теленка можно установить по изменению потенциалов. Если потенциал катодного пика становится отрицательнее вследствие взаимодействия небольшой молекулы с ДНК, то такое взаимодействие носит электростатический характер [42]. Таким образом, хорошо выраженный “катод-

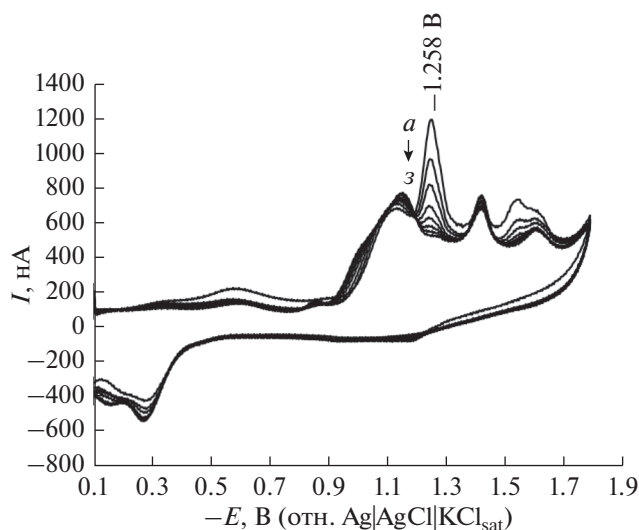


Рис. 5. Циклические вольтамперограммы 8.81×10^{-5} М Шиффова основания 2 в фосфатном буферном растворе (рН 7.4) в отсутствие (а) и в присутствии (б) 1.15×10^{-7} , (в) 2.29×10^{-7} , (г) 3.42×10^{-7} , (д) 4.54×10^{-7} , (е) 5.64×10^{-7} , (ж) 6.74×10^{-7} , (з) 7.83×10^{-7} М ДНК из зубной железы телянка. Другие экспериментальные условия: скорость развертки потенциала 500 мВ с^{-1} ; ступень потенциала 4 мВ; средний размер Hg-капли; время установления равновесия 5 с.

ный” сдвиг потенциала пиков тока Шиффова основания 1 при добавлении ДНК из зубной железы телянка следует приписать электростатическому взаимодействию между этими молекулами.

Мы также исследовали влияние ионной силы на связывание Шиффовых оснований с ДНК из зубной железы телянка. При изменении концентрации NaCl от 0.004 до 0.035 М наблюдались различные эффекты ионной силы на это взаимодействие. С ростом ионной силы главный пик тока Шиффова основания 1 в присутствии ДНК из зубной железы телянка снижался по экспоненциальному закону и в конце концов уменьшился приблизительно до 72% от его высоты в отсутствие NaCl (рис. 6).

Этот результат указывает на электростатическое взаимодействие Шиффова основания 1 с ДНК из зубной железы телянка, поскольку ионное окружение может оказывать влияние на электрохимические взаимодействия через ионный экранирующий эффект [21]. Эффективность такого ионного экранирования увеличивается с ростом ионной силы раствора, так что следует ожидать снижения пикового тока при увеличении ионной силы раствора [21]. При электростатических взаимодействиях, когда Шиффова основание 1 остается в контакте со средой, это влияние ионной силы кажется вполне объяснимым [21].

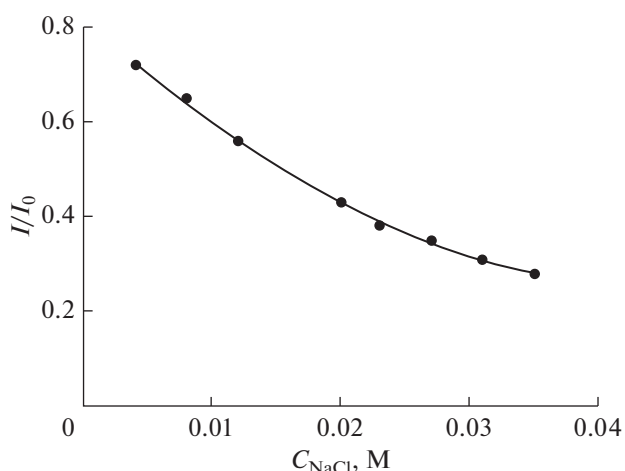


Рис. 6. График зависимости I/I_0 от концентрации NaCl для пика на циклической вольтамперограмме Шиффова основания 1 при -1.148 В. Экспериментальные условия: 7.69×10^{-5} М Шиффова основание 1 + 2.93×10^{-6} М ДНК из зубной железы телянка в 0.02 М фосфатном буферном растворе (рН 7.4). I_0 и I – значения пиковых токов, соответственно, в отсутствие и в присутствии NaCl. Другие экспериментальные условия: скорость развертки потенциала 500 мВ с^{-1} ; ступень потенциала 4 мВ; средний размер Hg-капли; время установления равновесия 5 с.

В противоположность вышеописанному поведению, для комплекса Шиффова основание 2–ДНК из зубной железы телянка не наблюдалось сколько-нибудь существенного изменения тока в главном пике восстановления при увеличении ионной силы раствора (рис. 7). Эти данные подчеркивают, что взаимодействие Шиффова основания 2 с ДНК из зубной железы телянка не зависит от концентрации соли и носит характер, главным образом, комплексов включения [7]. В этом взаимодействии, где Шиффова основание 2 выходит из растворителя и включается внутрь “карманов” пары оснований ДНК, ионная сила среды с меньшей вероятностью может повлиять на вольтамперометрический ток [21].

На основе результатов, полученных как по влиянию концентрации соли, так и по изменению главных пиков тока восстановления Шиффовых оснований 1 и 2 в присутствии ДНК из зубной железы телянка, можно заключить, что взаимодействие между Шиффовыми основаниями 1 и 2 и ДНК из зубной железы телянка является электростатическим, несмотря на образование комплексов включения и не электроактивных комплексов Шиффова основания 2 с ДНК из зубной железы телянка

Исследование спектров поглощения. Взаимодействие между Шиффовыми основаниями 1 и 2 и ДНК из зубной железы телянка было исследо-

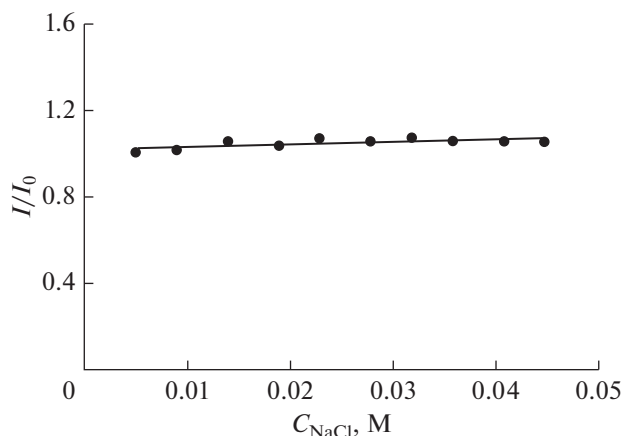


Рис. 7. График зависимости I/I_0 от концентрации NaCl для пика на циклической вольтамперограмме Шиффова основания 2 при -1.258 В. Экспериментальные условия: 2.26×10^{-5} М Шиффова основание 2 + 6.89×10^{-7} М ДНК из зубной железы теленка в 0.02 М фосфатном буферном растворе (рН 7.4). I_0 и I – значения пиковых токов, соответственно, в отсутствие и в присутствии NaCl. Другие экспериментальные условия: скорость развертки потенциала 500 мВ с^{-1} ; ступень потенциала 4 мВ; средний размер Hg-капли; время установления равновесия 5 с.

вано также методом электронных спектров поглощения. На рис. 8 и 9 показаны спектры поглощения Шиффовых оснований 1 и 2 в отсутствие и в присутствии ДНК из зубной железы теленка. В

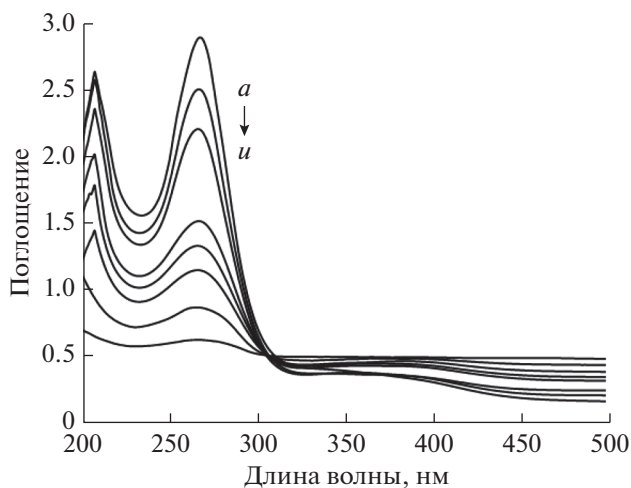


Рис. 8. Спектры поглощения в УФ- и видимой областях 8.35×10^{-5} М Шиффова основания 1 в фосфатном буферном растворе (рН 7.4). I_0 и I – значения пиковых токов, соответственно, в отсутствие (а) и в присутствии (б) 2.08×10^{-7} , (в) 3.03×10^{-7} , (г) 6.36×10^{-7} , (д) 8.46×10^{-7} , (е) 1.06×10^{-6} , (ж) 1.27×10^{-6} , (з) 1.48×10^{-6} , (и) 1.69×10^{-6} М ДНК из зубной железы теленка.

фосфатном буферном растворе (рН 7.4) длины волн максимумов поглощения Шиффовых оснований 1 и 2 (рис. 8 и 9) отличаются от полученных в чистом диметилформамиде в качестве растворителя (см. раздел “Экспериментальная часть”). Это различие может быть вызвано средой. В случае Шиффова основания 1 поглощение при 319 нм (которое наблюдается в диметилформамиде с $\epsilon_{319} = 745$ $\text{М}^{-1} \text{см}^{-1}$) исчезает в фосфатном буфере (рН 7.4). Также максимум поглощения при 260 нм сдвинут в сторону более длинных волн (267 нм), предположительно из-за изменения полярности среды [43]. Более того, коэффициент поглощения при 267 нм ($\epsilon_{267} = 28023$ $\text{М}^{-1} \text{см}^{-1}$) явно выше, чем в чистом диметилформамиде ($\epsilon_{260} = 918$ $\text{М}^{-1} \text{см}^{-1}$). Шиффова основание 2 в фосфатном буфере (рН 7.4) демонстрирует полосы поглощения при 241 , 273 , 303 и 518 нм (соответственно, $\epsilon_{241} = 18253$ $\text{М}^{-1} \text{см}^{-1}$, $\epsilon_{273} = 14891$ $\text{М}^{-1} \text{см}^{-1}$, $\epsilon_{303} = 15216$ $\text{М}^{-1} \text{см}^{-1}$ и $\epsilon_{518} = 4642$ $\text{М}^{-1} \text{см}^{-1}$). Однако, полоса поглощения при 241 нм в чистом диметилформамиде не наблюдается. Полосы поглощения (в чистом диметилформамиде) при 278 и 298 нм сдвинуты, соответственно, к 273 и 303 нм (в фосфатном буферном растворе).

Связывание Шиффовых оснований 1 и 2 с ДНК из зубной железы теленка вызывает изменения в спектрах. С ростом концентрации ДНК из зубной железы теленка, полосы поглощения при 267 и 241 нм, соответственно, Шиффовых оснований 1 и 2 демонстрируют значительный гипохромный эффект. Этот гипохромизм полосы поглощения Шиффова основания 1 при 267 нм достигает 94% , в то время как для полосы

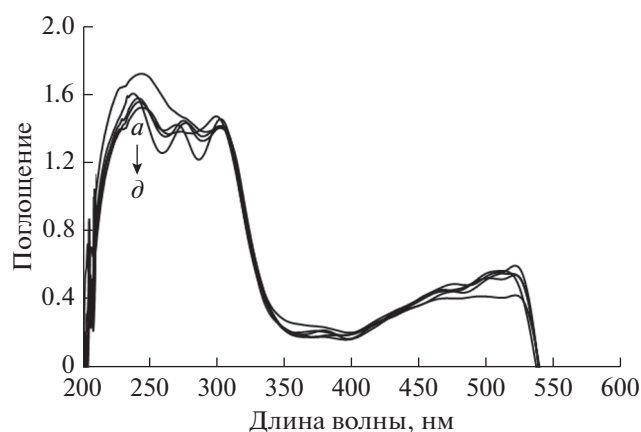


Рис. 9. Спектры поглощения в УФ- и видимой областях 8.35×10^{-5} М Шиффова основания 2 в фосфатном буферном растворе (рН 7.4) в отсутствие (а) и в присутствии (б) 4.24×10^{-7} , (в) 6.36×10^{-7} , (г) 8.46×10^{-7} , (д) 1.48×10^{-6} М ДНК из зубной железы теленка.

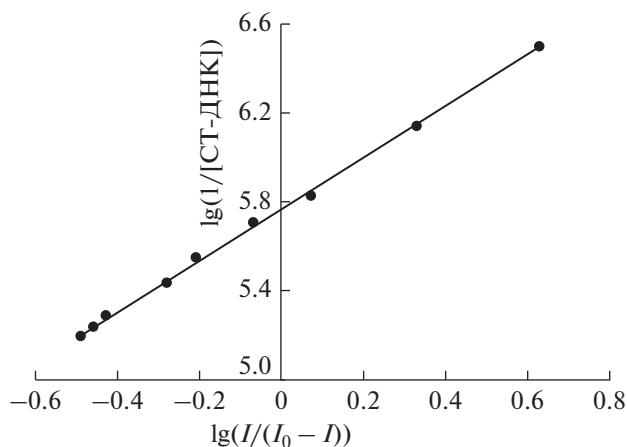


Рис. 10. График зависимости $\lg(1/[\text{ДНК из зобной железы теленка}])$ от $\lg(I/(I_0 - I))$ для Шиффова основания 1. Экспериментальные условия: 1.25×10^{-4} М Шиффово основание 1 в 0.02 М фосфатном буферном растворе (рН 7.4).

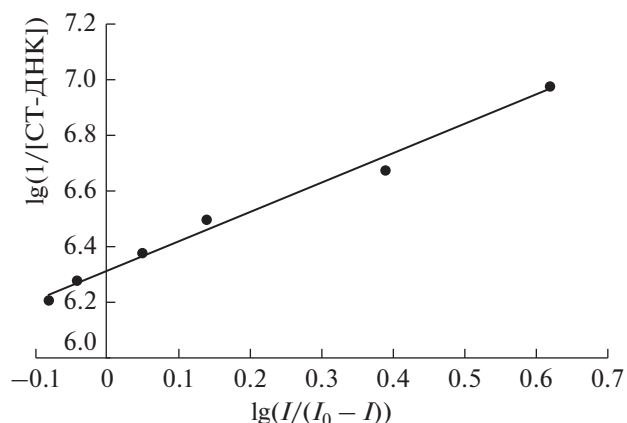


Рис. 11. График зависимости $\lg(1/[\text{ДНК из зобной железы теленка}])$ от $\lg(I/(I_0 - I))$ для Шиффова основания 2. Экспериментальные условия: 8.81×10^{-5} М Шиффово основание 2 в 0.02 М фосфатном буферном растворе (рН 7.4).

поглощения Шиффова основания 2 при 241 нм он равен 13%. Однако, в присутствии ДНК из зобной железы теленка не наблюдается сколько-нибудь значительного сдвига полос поглощения Шиффовых оснований 1 и 2. Обычно, когда небольшая молекула взаимодействует с ДНК, должны наблюдаться изменения в ее поглощении (гипохромизм) [44].

Вышеописанные спектральные изменения позволяют выявить особенности взаимодействия Шиффовых оснований 1 и 2 с ДНК из зобной железы теленка. Для того, чтобы получить константы связывания (K) и стехиометрию комплексов ДНК из зобной железы теленка с Шиффовыми основаниями, мы использовали как электрохимические, так и спектроскопические методы (см. следующий раздел).

Исследование констант связывания и стехиометрии. Принимается, что в результате связывания Шиффовых оснований с ДНК из зобной железы теленка образуются только комплексы с отношением компонентов 1 : 1. Поэтому константы связывания Шиффовых оснований с ДНК из зобной железы теленка можно получить из измене-

ний пиковых токов с ростом концентрации ДНК из зобной железы теленка в соответствии со следующим уравнением [45]:

$$\lg(1/[\text{ДНК из зобной железы теленка}]) = \lg K + \lg(I/(I_0 - I)), \quad (5)$$

где K – это константа связывания, I и I_0 – токи главного пика на вольтамперограмме Шиффовых оснований, соответственно, в присутствии и в отсутствие ДНК из зобной железы теленка. Из отрезков, отсекаемых на оси прямыми линиями на графиках (рис. 10 и 11) зависимостей $\lg(1/[\text{ДНК из зобной железы теленка}])$ от $\lg(I/(I_0 - I))$, были вычислены значения K (табл. 2).

Принимая наиболее обычное значение для отношения хозяин–гость равным 1 : 1 и основываясь на изменении концентрации ДНК из зобной железы теленка при постоянной концентрации Шиффова основания, мы определили константы связывания (K) также из спектров поглощения с помощью следующего уравнения [46]:

$$[A_0/(A - A_0)] = [\epsilon_G/(\epsilon_{H-G} - \epsilon_G)] + [\epsilon_G/(\epsilon_{H-G} - \epsilon_G)] \times (1/K [\text{ДНК из зобной железы теленка}]), \quad (6)$$

Таблица 2. Константы связывания, вычисленные из данных циклической вольтамперометрии и спектроскопии в УФ- и видимой областях

Взаимодействие в системе	K, M^{-1}	
	циклическая вольтамперометрия	спектроскопия
Шиффово основание 1 + ДНК из зобной железы теленка	5.91×10^5	5.52×10^5
Шиффово основание 2 + ДНК из зобной железы теленка	2.08×10^6	1.77×10^6

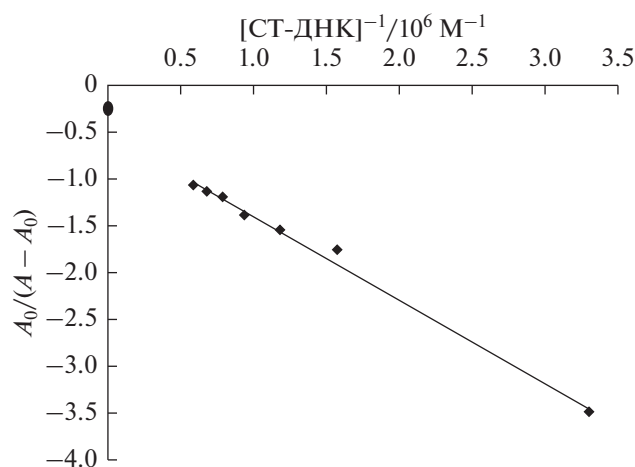


Рис. 12. График зависимости $A_0/(A - A_0)$ от [ДНК из зобной железы телянка]⁻¹ для Шиффова основания 1. Экспериментальные условия: 8.35×10^{-5} М Шиффова основание 1 в 0.02 М фосфатном буферном растворе (рН 7.4) (поглощение измерено при длине волны 267 нм).

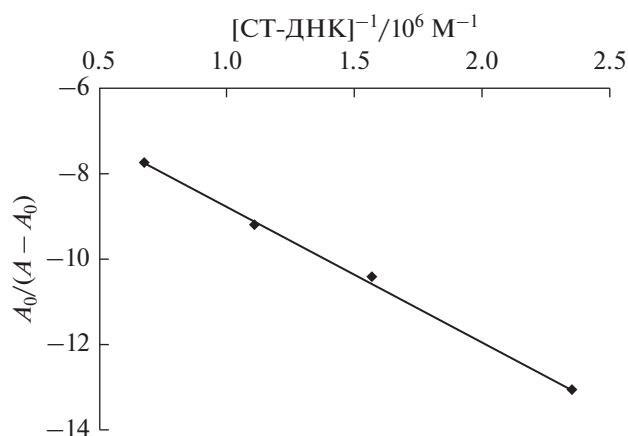


Рис. 13. График зависимости $A_0/(A - A_0)$ от [ДНК из зобной железы телянка]⁻¹ для Шиффова основания 2. Экспериментальные условия: 8.35×10^{-5} М Шиффова основание 2 в 0.02 М фосфатном буферном растворе (рН 7.4) (поглощение измерено при длине волны 241 нм).

где A_0 и A – значения поглощения Шиффова основания, соответственно, в отсутствие и в присутствии ДНК из зобной железы телянка, а ϵ_G и ϵ_{H-G} – коэффициенты поглощения, соответственно, Шиффова основания и его комплекса с ДНК из зобной железы телянка. Из наклона прямых линий на графиках зависимости $A_0/(A - A_0)$ при 267 и 241 нм от [ДНК из зобной железы телянка]⁻¹ (рис. 12 и 13) и величины отрезка, от тетраметилсилан, отсекаемого ими на оси, были определены значения K (табл. 2).

На основе результатов, полученных с использованием методов как циклических вольтамперограмм, так и спектров поглощения в УФ- и видимой областях (табл. 2), можно заключить, что константа связывания для Шиффова основания 2 больше, чем для Шиффова основания 1. Этот результат показывает, что Шиффова основание 2 обладает большим сродством к ДНК из зобной железы телянка, чем Шиффова основание 1.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящей работе Шиффова основания 1 и 2 были синтезированы по реакции сульфаметизола с 2,3-дигидроксибензальдегидом и 2,4,6-тригидроксибензальдегидом и охарактеризованы методами элементного анализа и спектроскопии. Исследована также их противогрибковая активность. Кроме того, мы исследовали связывание Шиффова оснований 1 и 2 с ДНК из зобной железы телянка при физиологическом значении рН методами электронных спектров поглощения и

циклической вольтамперометрии. Вольтамперометрические и спектроскопические (в УФ- и видимой областях спектра) данные подтверждают, что между Шиффовыми основаниями и ДНК из зобной железы телянка образуются комплексы со стехиометрией 1 : 1. Электрохимические измерения показали, что основную роль в связывании Шиффова оснований с ДНК из зобной железы телянка играют электростатические силы. С другой стороны, в основе взаимодействия между Шиффовым основанием 2 и ДНК из зобной железы телянка может лежать образование комплексов включения и неэлектроактивных комплексов.

Константа связывания Шиффова основания 2 больше, чем константа связывания Шиффова основания 1, и это может указывать на то, что силы, связывающие ДНК из зобной железы телянка и Шиффова основание 2, сильнее сил, связывающих Шиффова основание 1. Однако, Шиффова основание 1 демонстрирует более сильную противогрибковую активность (МИС = 8 мкг мл⁻¹), чем Шиффова основание 2 (МИС = 16 мкг мл⁻¹), по отношению к *Candida albicans*. Наконец, сродство ДНК из зобной железы телянка при связывании с синтезированными Шиффовыми основаниями обратно пропорционально противогрибковой активности.

Часть данного исследования была представлена, как постер на Международной евразийской конференции по биологическим и химическим наукам (EurasianBioChem 2018), 26–27 апреля 2018, Анкара, Турция).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Khan, F., Khan, S., Athar, A., Ahmed, W., Zia-ul-Haq, and Khan, Z., Synthesis, Spectral Characterization and Antibacterial Study of a Schiff Base Metal Complexes Derived from N-[(E)-(5-Chloro-2-Hydroxyphenyl)Methylidene]-4-Nitrobenzenesulfonamide, *American-Eurasian J. Agric. Environ. Sci.*, 2015, vol. 15, p. 216.
2. Kumar, G., Kumar, D., Singh, C.P., Kumar, A., and Rana, V.B., Synthesis, physical characterization and antimicrobial activity of trivalent metal Schiff base complexes, *J. Serb. Chem. Soc.*, 2010, vol. 75, p. 629.
3. Xiao, Y.-J., Diao, Q.-C., Liang, Y.-H., and Zeng, K., Two novel Co(II) complexes with two different Schiff bases: inhibiting growth of human skin cancer cells, *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 2017, vol. 50, p. e6390.
4. Han, R., Sun, Y., Kang, C., Sun, H., and Wei, W., Amphiphilic dendritic nanomicelle-mediated co-delivery of 5-fluorouracil and doxorubicin for enhanced therapeutic efficacy, *J. Drug Target.*, 2017, vol. 25, p. 140.
5. Sohrabi, N., Rasouli, N., and Kamkar, M., Synthesis, Characterization and DNA Interaction Studies of (N,N'-Bis(5-phenylazosalicylaldehyde)-ethylenediamine) Cobalt(II) Complex, *Bull. Korean Chem. Soc.*, 2014, vol. 35, p. 2523.
6. Ni, Y., Lin, D., and Kokot, S., Synchronous fluorescence and UV-vis spectrometric study of the competitive interaction of chlorpromazine hydrochloride and Neutral Red with DNA using chemometrics approaches, *Talanta*, 2005, vol. 65, p. 1295.
7. Temerk, Y. and Ibrahim, H., Electrochemical studies and spectroscopic investigations on the interaction of an anticancer drug flutamide with DNA and its analytical applications *J. Electroanal. Chem.*, 2015, vol. 736, p. 1.
8. Carter, M.T. and Bard, A.J., Voltammetric studies of the interaction of tris(1,10-phenanthroline)cobalt(III) with DNA, *J. Am. Chem. Soc.*, 1987, vol. 109, p. 7528.
9. Ahmadi, F., Alizadeh, A.A., Bakhshandeh-Saraskanrood, F., Jafari, B., and Khodadadian, M., Experimental and computational approach to the rational monitoring of hydrogen-bonding interaction of 2-Imidazolidinethione with DNA and guanine, *Food Chem. Toxicol.*, 2010, vol. 48, p. 29.
10. Ahmadi, F. and Jafari, B., Voltammetry and Spectroscopy Study of In Vitro Interaction of Fenitrothion with DNA, *Electroanalysis*, 2011, vol. 23, p. 675.
11. Cox, P.J., Psomas, G., and Bolos, C.A., Characterization and DNA-interaction studies of 1,1-dicyano-2,2-ethylene dithiolate Ni(II) mixed-ligand complexes with 2-amino-5-methyl thiazole, 2-amino-2-thiazoline and imidazole. Crystal structure of [Ni(i-MNT)(2a-5mt)2], *Bioorg. Med. Chem.*, 2009, vol. 17, p. 6054.
12. Gao, F., Wang, Q., Zheng, M., Li, S., Chen, G., Jiao, K., and Gao, F., Electrochemical Studies on the Recognition of a Ternary Copper Complex to Single-Stranded DNA and Double-Stranded DNA, *Int. J. Electrochem. Sci.*, 2011, vol. 6, p. 1508.
13. Zhang, X., Li, M., Cui, Y., Zhao, J., Cui, Z., Li, Q., and Qu, K., Electrochemical Behavior of Calcein and the Interaction between Calcein and DNA, *Electroanalysis*, 2012, vol. 24, p. 1878.
14. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/sulfamethizole#section=Pharmacology-and-Biochemistry> (Accessed on Feb. 20, 2018).
15. Petrikaitė, V., Tarasevičius, E., and Pavilionis, A., New thiazolidones-4 with sulfamethizole-2 substituent as potential antifungal and antimicrobial preparations, *Biologija*, 2007, vol. 53, p. 45.
16. Pehlivan, V., Biçer, E., Genç Bekiroğlu, Y., and Dege, N., Synthesis, In Vitro Antibacterial Activity and Calf Thymus DNA Binding of Sulfamethizole-based Schiff Bases, *Book of Abstracts, 4th International Türk-Pak Conference Chemical Sciences (ITPCCS 2017), October 26–28, 2017 Konya-TURKEY*, PP017.
17. Omanović, D. and Branica, M., Automation of Voltammetric Measurements by Polarographic Analyser PAR 384B, *Croat. Chem. Acta*, 1998, vol. 71, p. 421.
18. Hajian, R., Ekhlasi, E., and Daneshvar, R., Spectroscopic and Electrochemical Studies on the Interaction of Epirubicin with Fish Sperm DNA, *E.-J. Chem.*, 2012, vol. 9, p. 1587.
19. Naik, T.R.R. and Naik, H.S.B., Electrochemical Investigation of DNA Binding on Carbaldehyde Oxime by Cyclic Voltammetry, *Int. J. Electrochem. Sci.*, 2008, vol. 3, p. 409.
20. Babkina, S.S. and Ulakhovich, N.A., Complexing of Heavy Metals with DNA and New Bioaffinity Method of Their Determination Based on Amperometric DNA-Based Biosensor, *Anal. Chem.*, 2005, vol. 77, p. 5678.
21. Shah, A., Zaheer, M., Qureshi, R., Akhter, Z., and Nazar, M.F., Voltammetric and spectroscopic investigations of 4-nitrophenylferrocene interacting with DNA, *Spectrochim. Acta Part A*, 2010, vol. 75, p. 1082.
22. Asghar, F., Badshah, A., Shah, A., Rauf, M.K., Ali, M.I., Tahir, M.N., Nosheen, E., Zia-ur-Rehman, and Qureshi, R., Synthesis, characterization and DNA binding studies of organoantimony(V) ferrocenyl benzoates, *J. Organometallic Chem.*, 2012, vol. 717, p. 1.
23. Hua, D. and Chung, T.-S., Universal surface modification by aldehydes on polymeric membranes for isopropanol dehydration via pervaporation, *J. Membrane Sci.*, 2015, vol. 492, p. 197.
24. Sprung, M.A., A summary of the reactions of aldehydes with amines, *Chem. Rev.*, 1940, vol. 26, p. 297.
25. Huang, A. and Caro, J., Covalent post-functionalization of zeolitic imidazolate framework ZIF-90 membrane for enhanced hydrogen selectivity, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2011, vol. 50, p. 4979.
26. Patil, M.P. and Sunoj, R.B., Insights on Co-Catalyst-Promoted Enamine Formation between Dimethylamine and Propanal through Ab Initio and Density Functional Theory Study, *J. Org. Chem.*, 2007, vol. 72, p. 8202.
27. Chatziefthimiou, S.D., Lazarou, Y.G., Hadjoudis, E., Dziembowska, T., and Mavridis, I.M., Keto Forms of Salicylaldehyde Schiff Bases: Structural and Theoretical Aspects, *J. Phys. Chem. B*, 2006, vol. 110, p. 23701.
28. Filarowski A. and Majerz, I., AIM Analysis of Intramolecular Hydrogen Bonding in O-Hydroxy Aryl Schiff Bases, *J. Phys. Chem. A*, 2008, vol. 112, p. 3119.
29. Filarowski, A., Intramolecular hydrogen bonding in o-hydroxyaryl Schiff bases, *J. Phys. Org. Chem.*, 2005, vol. 18, p. 686.

30. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts*. 3rd ed. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008 (Approved standard. M27-S3).
31. Meti, M.D., Abbar, J.C., Nandibewoor, S.T., and Chimatadar, S.A., Voltammetric oxidation of carbenicillin and its electro analytical applications at gold electrode, *Cogent Chemistry*, 2016, vol. 2, p. 1 doi 10.1080/23312009.2016.1235459
32. Gosser, D.K., *Cyclic voltammetry: Simulation and analysis of reaction mechanisms*, VCH, New York, 1993, p. 43.
33. Pedrero, M., de Villena, F.J.M., Pingarrón, J.M., and Polo, L.M., Determination of Dinoseb by Adsorptive Stripping Voltammetry, *Electroanalysis*, 1991, vol. 3, p. 419.
34. Giannakopoulos, E., Deligiannakis, Y., and Salahas, G., Electrochemical interfacial adsorption mechanism of polyphenolic molecules onto Hanging Mercury Drop Electrode surface (HMDE), *J. Electroanal. Chem.*, 2012, vol. 664, p. 117.
35. Coşkun, E. and Biçer, E., Sülfatiazolün Ni(II) iyonlarıyla etkileşiminin voltammetrik incelenmesi, *Erciyes Univ. J. Inst. Sci. Technol.*, 2014, vol. 30, p. 296.
36. Sabry, S.M., Barary, M.H., Abdel-Hay, M.H., and Belal, T.S., Adsorptive stripping voltammetric behaviour of azomethine group in pyrimidine-containing drugs, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 2004, vol. 34, p. 509.
37. Habib, I.H.I., Weshahyi S.A., Toubar, S., and El-Alamin, M.M.A., Cathodic Stripping Voltammetric Determination of Losartan in Bulk and Pharmaceutical Products, *Portugaliae Electrochim. Acta*, 2008, vol. 26, p. 315.
38. Manoušek, O., Exner, O., and Zuman, P., Fission of activated carbon-nitrogen and carbon-sulphur bonds. XI. Polarographic reduction of substituted benzenesulphoamides, in: *Topics on Organic Polarography*, Zuman, P. (Ed.), Plenum, London, 1970, p. 322.
39. Chambers, J.Q., Organic sulphur compounds, in: *Encyclopedia of Electrochemistry of the Elements*, Bard, A.J. and Lund, H. (Eds.), Organic section, Volume XII, Chapter XII-3, p. 371.
40. Smyth, M.R. and Smyth, W.F., Voltammetric methods for the determination of foreign organic compounds of biological significance, *Analyst*, 1978, vol. 103, p. 529.
41. Çakır, S. and Biçer, E., Synthesis, spectroscopic and electrochemical characteristics of a novel Schiff-base from saccharin and tryptophan, *J. Iran. Chem. Soc.*, 2010, vol. 7, p. 394.
42. Carter, M.T., Rodriguez, M., and Bard, A.J., Voltammetric Studies of the Interaction of Metal Chelates with DNA. 2. Tris-Chelated Complexes of Cobalt(III) and Iron(II) with 1,10-Phenanthroline and 2,2'-Bipyridine *J. Am. Chem. Soc.*, 1989, vol. 111, p. 8901.
43. Tung, Y.-L., Lee, S.-W., Chi, Y., Chen, L.-S., Shu, C.-F., Wu, F.-I., Carty, A.J., Chou, P.-T., Peng, S.-M., and Lee, G.-H., Organic Light-Emitting Diodes based on Charge-Neutral Ru^{II} Phosphorescent Emitters, *Adv. Mater.*, 2005, vol. 17, p. 1059.
44. Pakravan, P. and Masoudian, S., Study on the Interaction between Isatin- β -Thiosemicarbazone and Calf Thymus DNA by Spectroscopic Techniques, *Iran. J. Pharm. Res.*, 2015, vol. 14, p. 111.
45. Mallappa, M., Gowda, B.G., and Mahesh, R.T., Mechanism of interaction of antibacterial drug moxifloxacin with herring sperm DNA: Electrochemical and spectroscopic studies, *Der Pharma Chemica*, 2014, vol. 6, p. 398.
46. Jiang, Y., Yuan, Y., Wang, K., Li, H., Xu, C., and Yang, X., Spectroscopic and Electrochemical Studies on the Binding of Pyrocatechol Violet with Telomere DNA and Its Application, *Int. J. Electrochem. Sci.*, 2012, vol. 7, p. 10933.