

用钽胺分子氢配合物作为探针研究药物与核苷酸的配位动力学

杨 频* 孟祥丽 岳丽君 席小莉

(山西大学分子科学研究所 太原 030006)

摘要 研究了脱氧鸟苷酸(dGMP)及仅有一个配位位点的类似物——咪唑和磷酸氢二钠、磷酸二氢钠与探针的作用,结果表明:dGMP 与探针的结合并非咪唑氮和磷酸氧与探针配位结果的简单加和,采用核磁和紫外-停留手段研究了药剂 Me_2SnCl_2 , Bu_2SnCl_2 在不同浓度下与探针竞争 dGMP 配位位点的溶液化学及其反应动力学,得到了探针和药物与 dGMP 的结合位点、结合常数以及其动力学结果,对一些反应的机理作出了诠释.

关键词 钽胺分子氢配合物,核苷酸, dGMP, 探针

Kinetic Study on the Coordination of the Agents with Nucleotides Using Os - H_2 Complex as a Probe

YANG Pin* MENG Xiang-Li YUE Li-Jun XI Xiao-Li

(Institute of Molecular Science, Shanxi University, Taiyuan, 030006)

Abstract Interaction between dGMP or its one-binding-site analogues - imidazole, NaH_2PO_4 , Na_2HPO_4 and the probe $[\text{trans} - \text{en}_2\text{Os}(\eta^2 - \text{H}_2)\text{D}_2\text{O}]^{2+}$ were studied. The results suggested that the coordination between dGMP and the probe was not the simple sum of the coordination of probe with imidazole and that with NaH_2PO_4 or Na_2HPO_4 . The solution chemistry and the dynamics of anticancer agents Me_2SnCl_2 , Bu_2SnCl_2 competing for the binding sites of dGMP with the probe at different concentrations were studied using ^1H NMR and UV-stopped-flow instruments. Binding sites, equilibrium constants and the dynamic results of the probe and the anticancer agents with dGMP were thus obtained. Some reaction mechanisms is also proposed.

Keywords Os - H_2 complex, nucleotide, dGMP, probe

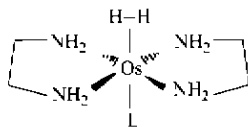
钽胺分子氢配合物^{[1],[2]} $[\text{trans} - \text{en}_2\text{Os}(\eta^2 - \text{H}_2)](\text{CF}_3\text{SO}_3)_2$ 溶于水后可生成 $[\text{trans} - \text{en}_2\text{Os}(\eta^2 - \text{H}_2)\text{D}_2\text{O}]^{2+}$, 本文称它为探针,记做 $\text{Pr}(\text{D}_2\text{O})$ 或 Pr . 这个与 D_2O 结合形成的配合物可被多种生物分子(如核苷酸、RNA、氨基酸、多肽、磷脂)的氧、氮、硫等给体原子(记做 L)所置换,如下所示.其置换产物被记做 $\text{Pr}(\text{L})$, 若与磷酸氧配位形成的配合物记做 Pr

(phos). 探针与不同生物分子配体配位或与同一配体的不同位点配位都会使探针的分子氢配体产生 $\delta = 0 \sim -20$ 的特征负区化学位移、偶合常数及弛豫时间. 另一方面,由于 DNA 是大多数抗癌剂作用的靶分子^[3,4], 因此,金属抗癌剂与 DNA 的结构单元 dGMP 的配位作用研究是阐明其与 DNA 作用方式的重要步骤.

* E-mail: yangpin@sxu.edu.cn

收稿日期: 2000-07-19, 修回日期: 2000-10-20, 定稿日期: 2000-11-26

(Received July 19, 2000. Revised October 20, 2000. Accepted November 26, 2000)



[*trans*-en₂Os(η²-H₂)L]²⁺ 的结构式

李在威首次运用 [*trans*-en₂Os(η²-H₂)D₂O]²⁺ 作为 ¹H NMR 探针在 pD = 7.0 的近生理条件下研究了一些单核苷酸与探针中 Os(II) 的配位情况^[1,2], 但对其动态过程未作深入研究, 特别是对于加入药剂后的三元体系未作实验探索。

dGMP 分子中含有可与探针 Os 配位的碱基 N₇ 和磷酸氧^[1] 两个配位位点, 当体系中加入药物时, 不同组分间的相互作用变得更为复杂。为了更确切地了解可与 Os(II) 配位的双配位基团 dGMP 的特征以及在三元体系中药与 dGMP 配位的情况, 我们运用超导核磁和紫外-停留两种手段研究了 dGMP 及其单配位点类似物咪唑和磷酸二氢根及磷酸氢根与探针的作用, 进而研究了加入药剂后三元体系中药剂金属与探针的中心金属 Os(II) 竞争结合 dGMP 中碱基氮、磷酸氧配位位点的动态过程, 得到了这些体系的配位状态及动力学数据。由于这种竞争结合状态符合软硬酸碱中“软亲软, 硬亲硬”的反应规律, 因此为两极互补原理中的“作用方式的两极互补”^[3] 提供了一个佐证。

1 实验

1.1 试剂

探针 [*trans*-en₂Os(η²-H₂)](CF₃SO₃)₂ (简记作 Pr) 按文献^[5] 方法合成, 二氯二甲基锡、二氯二丁基锡、NaOTf (三氟甲基磺酸钠) 为 Aldrich 试剂, dGMP (脱氧鸟苷酸)、DSS (4,4-二甲基 4-硅代戊磺酸钠) 为 Sigma 公司产品, 咪唑 (Im)、磷酸氢二钠、磷酸二氢钠为分析纯试剂。

1.2 分析方法

在无水无氧系统中合成探针: 向重水中通入高纯氮以除去溶解氧; 所有溶液均在严格除氧充氮的手套箱中配制; 同时为保证恒定的离子强度, 所有待测体系均加入过量 10 倍以上的三氟甲基磺酸钠, 运用核磁进行测定的体系中三氟甲基磺酸钠的最终浓度为 0.1 mol/L, 实验温度为 27 °C; 用紫外停留研究动力学时, 三氟甲基磺酸钠在体系中的最终浓度为 1.0 mol/L; 实验温度为 25 °C。

本文应用核磁共振主要研究下面二元和三元共 12 个反应体系, 其中两个 pH 值分别为反应前和反应后测定的。

二元体系 1: [Im] = [Pr] = 0.01 mol·L⁻¹

[NaOTf] = 0.1 mol·L⁻¹ pH: 7.44 ~ 3.267

二元体系 2: [Im] = [NaOTf] = 0.1 mol·L⁻¹

[Pr] = 0.01 mol·L⁻¹ pH: 8.43 ~ 7.70

二元体系 3: [Na₂HPO₄] = [Pr] = 0.01 mol·L⁻¹

[NaOTf] = 0.1 mol·L⁻¹ pH: 7.06 ~ 6.26

二元体系 4: [Na₂HPO₄] = [NaOTf] = 0.1 mol·L⁻¹

[Pr] = 0.01 mol·L⁻¹ pH: 7.97 ~ 7.81

二元体系 5: [NaH₂PO₄] = [Pr] = 0.01 mol·L⁻¹

[NaOTf] = 0.1 mol·L⁻¹ pH: 2.87 ~ 2.58

二元体系 6: [NaH₂PO₄] = [NaOTf] = 0.1 mol·L⁻¹

[Pr] = 0.01 mol·L⁻¹ pH: 3.71 ~ 3.63

二元体系 7: [dGMP] = [Pr] = 0.01 mol·L⁻¹

[NaOTf] = 0.1 mol·L⁻¹ pH: 6.46 ~ 4.81

二元体系 8: [dGMP] = [NaOTf] = 0.1 mol·L⁻¹

[Pr] = 0.01 mol·L⁻¹ pH: 7.42 ~ 7.13

三元体系 9:

[dGMP] = [Pr] = [Me₃SnCl₂] = 0.01 mol·L⁻¹

[NaOTf] = 0.1 mol·L⁻¹ pH: 3.14 ~ 3.46

三元体系 10: [dGMP] = [NaOTf] = 0.1 mol·L⁻¹

[Me₃SnCl₂] = [Pr] = 0.01 mol·L⁻¹

pH: 6.81 ~ 6.73

三元体系 11:

[dGMP] = [Pr] = [Bu₂SnCl₂] = 0.01 mol·L⁻¹

[NaOTf] = 0.1 mol·L⁻¹ pH: 2.66 ~ 2.45

三元体系 12: [dGMP] = [NaOTf] = 0.1 mol·L⁻¹

[Bu₂SnCl₂] = [Pr] = 0.01 mol·L⁻¹

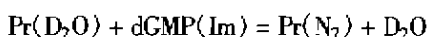
pH: 6.06 ~ 7.07

此外, 我们还通过紫外-停留系统, 研究了探针与 Im 以及探针与 NaH₂PO₄ 反应的动力学。

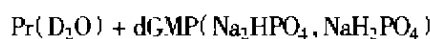
1.2.1 ¹H NMR 测定法 在除氧充氮的手套箱里将溶液配制于 5 mm 核磁管后, 加盖, 用封口膜将盖封紧, 以 DSS 作内标在 Bruker DRX-300 MHz NMR 谱仪上测核磁谱。将 DSS 的积分值定为 1.000, 所有的负区峰以此为标准进行积分, 由积分值按式(1)可求出各配合态物种 Pr(L) 的浓度。

$$(S_L/S_E) \times [Pr]_0 = [Pr(L)] \quad (1)$$

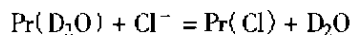
式中 S_L 为物种 Pr(L) 的特征峰积分值, S_E 为总的负区积分值。有关反应体系及其相应的平衡函数如式(2)~(6):



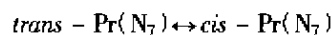
$$f[\text{Pr}(\text{N}_7)] = [\text{Pr}(\text{N}_7)] / ([\text{Pr}(\text{D}_2\text{O})][\text{dGMP}]) \quad (2)$$



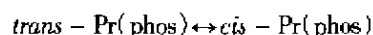
$$f[\text{Pr}(\text{phos})] = [\text{Pr}(\text{phos})] / ([\text{Pr}(\text{D}_2\text{O})][\text{dGMP}]) \quad (3)$$



$$f[\text{Pr}(\text{Cl})] = [\text{Pr}(\text{Cl})] / ([\text{Pr}(\text{D}_2\text{O})][\text{Cl}^-]) \quad (4)$$



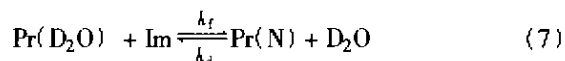
$$f_{\text{c} \rightarrow \text{t}} = [\text{cis} - \text{Pr}(\text{N}_7)] / [\text{trans} - \text{Pr}(\text{N}_7)] \quad (5)$$



$$f_{\text{c} \rightarrow \text{t}} = [\text{cis} - \text{Pr}(\text{phos})] / [\text{trans} - \text{Pr}(\text{phos})] \quad (6)$$

在某时刻对上述某体系进行测定时,如果反应 $\text{Pr}(\text{D}_2\text{O}) + \text{L} = \text{Pr}(\text{L}) + \text{D}_2\text{O}$ 尚未达平衡,则利用式(2)~(6)所得到的是反应的平衡函数 f ;若反应已达到平衡,则其 f 值即为该反应的平衡常数 K_1 值。

为了研究各体系的反应动力学,如对于咪唑氮与探针的配位反应,可设计以下计算方式:将 $\text{trans} - \text{Pr}(\text{N})$ 与 $\text{cis} - \text{Pr}(\text{N})$ 当成一个整体,则氮与探针的配位反应[式(2)]又可表示为



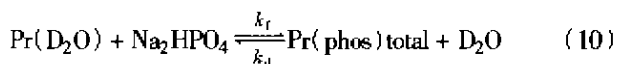
对于咪唑与探针浓度均为 $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的体系(体系 1),由于配体咪唑与探针浓度相同,只可按二级反应处理,反应速率式为

$$-d[\text{Im}]/dt = k_f[\text{Im}][\text{Pr}] \quad (8)$$

在咪唑浓度是探针浓度 10 倍的体系中(体系 2),计算时可将反应过程中的咪唑浓度看作一常数而按准一级反应处理,其反应速率常数为 k_3 ,反应速率式为

$$-d[\text{Pr}]/dt = k_3[\text{Pr}] \quad (9)$$

同样,对于磷酸氧与探针的配位,亦可将磷酸氢二钠、磷酸二氢钠与探针反应的体系中的 $\text{trans} - \text{Pr}(\text{phos})$ 与 $\text{cis} - \text{Pr}(\text{phos})$ 当成一个整体[式(3)],并可表示为



对于磷酸氢二钠与探针的作用,其二级反应速率式为

$$d[\text{Na}_2\text{HPO}_4]/dt = K_1[\text{Pr}(\text{D}_2\text{O})][\text{Na}_2\text{HPO}_4] \quad (11)$$

由于 dGMP 与探针的二元体系及加入试剂后的三元体系核磁谱中均未出现 $\text{cis} - \text{Pr}(\text{phos})$ 信号,因此可按式(3)处理,其准一级反应速率式为

$$-d[\text{trans} - \text{Pr}(\text{phos})]/dt = k[\text{trans} - \text{Pr}(\text{phos})] \quad (12)$$

对于咪唑氮或磷酸氧与探针配位的顺式反式构型间的转化[式(5),(6)]动力学,其一级反应速率式

分别为

$$d[\text{cis} - \text{Pr}(\text{N}_7)]/dt = k_2[\text{cis} - \text{Pr}(\text{N}_7)] \quad (13)$$

$$d[\text{cis} - \text{Pr}(\text{phos})]/dt = k_2[\text{cis} - \text{Pr}(\text{phos})] \quad (14)$$

对于配体浓度与探针浓度相等的体系(体系 1, 3, 5, 7, 9, 11),原则上其反应动力学过程可以按照二级反应处理,这些体系反应的平衡常数,可以利用式(2)~(6)中得到。在配体浓度是探针浓度 10 倍的体系中(体系 2, 4, 6, 8, 10, 12),计算时可将反应过程中的供氮配体或供氧配体的浓度看成一常数而按准一级反应处理。先分别从核磁谱上得到 $\text{trans} - \text{Pr}(\text{N})$, $\text{cis} - \text{Pr}(\text{N})$, $\text{Pr}(\text{N})_{\text{total}}$ 的平衡浓度,利用式(2)~(6)可求出相应反应的平衡常数,进而用

$$\ln |[\text{Pr}(\text{L})]_{\infty} - [\text{Pr}(\text{L})]_t|$$

对时间 t 作图得反应速率曲线,由曲线斜率,得相应配位形式的表观速率常数。

由于探针与磷酸氧的配位反应[式(3)]很快就达到平衡,运用超导核磁无法测知 $\text{trans} - \text{Pr}(\text{phos})$ 的形成反应的表观速率常数,对此,我们借助快速反应检测装置紫外-停留装置来解决这一问题。

1.2.2 紫外-停留测定法 应用紫外-停留装置,我们测定了 Pr 与 Im 及 Pr 与 NaH_2PO_4 (溶液中离子强度控制在 $\mu = 1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NaOTf}$) 两个反应体系的动力学。

该实验是在配有 HI-TECH SFA-20 停留仪的 HP 8453 紫外可见光谱仪上进行的。

单纯的探针体系在 204 nm 处有一个紫外吸收峰,加入咪唑或磷酸二氢钠后,最大吸收峰分别红移至 412 nm 及 290 nm。对新吸收峰进行监测,得一吸收曲线,并由此得出吸光度 A_t 和 A_{∞} 值。再由速率曲线 $\ln |A_{\infty} - A_t| - t$ 的斜率求得反应的准一级表观速率常数 k_{obs} ,由

$$k_{\text{obs}}/k_{-\text{obs}} = K \quad (15)$$

又可求出逆向反应速率常数 k_{-1} 。改变咪唑、磷酸二氢钠的浓度,得反应表观速率常数-浓度曲线,由该曲线斜率可知反应的二级速率常数 k_f ,利用公式

$$k_f/k_d = K \quad (16)$$

可求出相应解离反应的表观速率常数 k_d 。

我们规定形成 $\text{trans} - \text{Pr}(\text{N})$ (对于 Im 和 dGMP) 的速率常数为 k_1 ;由 $\text{trans} - \text{Pr}(\text{N})$ 形成 $\text{cis} - \text{Pr}(\text{N})$ 的速率常数为 k_2 ;由 $\text{trans} - \text{Pr}(\text{phos})$ 形成 $\text{cis} - \text{Pr}(\text{phos})$ 的速率常数都记为 k_2' ;由 $\text{Pr}(\text{D}_2\text{O})$ 形成 $\text{Pr}(\text{N})$ 总的速率常数为 k_3 ,由 $\text{Pr}(\text{phos})$ 形成 $\text{trans} - \text{Pr}(\text{N})$ 的速率常数为 k_4 。

2 结果与讨论

2.1 探针与咪唑的配位作用及动力学

在 $[\text{Im}] = [\text{Pr}] = 0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的体系(体系 1)中,反应进行 15 min 时(图 1a),探针主要以 $\text{Pr}(\text{D}_2\text{O})$ 这种配位形式存在,在核磁谱中其化学位移为 $\delta = -13.15$;同时有少量探针与咪唑氮配位形成 $\text{trans-Pr}(\text{N})$,其特征峰位于 $\delta = -9.006$ 处.反应 2~3 h,在 $\delta = -8.124$ 处出现一小峰,这是少量 $\text{trans-Pr}(\text{N})$ 转化为 $\text{cis-Pr}(\text{N})$ 的结果.随着反应的进行,顺式构型信号峰逐渐增强(图 1a).反应 43 h 后, $\text{Pr}(\text{D}_2\text{O})$ 仍没有全部转化,但是平衡函数已趋于稳定,由表 1a 数据可算得, $\text{trans-Pr}(\text{N})$ 的形成反应[式(2)]的平衡函数为 2.80×10^2 , $\text{Pr}(\text{N})$ 的 trans-

cis 转化反应[式(5)]的平衡函数为 2.43.

在 $[\text{Im}] = 0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, $[\text{Pr}] = 0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的体系中(体系 2),咪唑氮与探针的配位峰及峰位均与体系 1 中的相似,只是反应进行到 30~55 min 时 $\text{cis-Pr}(\text{N})$ 峰就已出现.反应 6 h 后,探针全部与咪唑氮配位(图 1b),由表 1b 数据可得, $\text{trans-Pr}(\text{N})$ 的形成反应(式 2)在 4 h 时平衡函数为 1.76×10^2 , $\text{Pr}(\text{N})$ 的反顺式转化反应(式 5)在 24 h 的平衡函数为 6.80.如将探针与咪唑氮配位的顺式和反式构型当成一个整体[式(7)],由于咪唑浓度是探针浓度的 10 倍,因此可按准一级反应处理.由反应速率曲线斜率求得表观速率常数为 $2.21 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$.而应用紫外-停留测定中,当咪唑浓度为 $0.105 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,求得表观速率常数为 $2.18 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$,可见两种方法所得结果十分接近.

表 1a 体系 1 咪唑与探针(1:1)中各溶液组分在不同时刻的浓度($10^3 c$)和 f 值

Table 1a The concentrations ($10^3 c$) of the species and f values at different time in the system $[\text{Im}]:[\text{Pr}(\text{D}_2\text{O})] = 1:1$

| $[\text{Im}]_0 = [\text{Pr}(\text{D}_2\text{O})]_0 = 1.00 \times 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}, 27^\circ \text{C}$ | | | | |
|--|--------|-------|--------------------|--------------------|
| t | 15 min | 3 h | 41 h | 43 h |
| $\text{cis-Pr}(\text{N}_7)$ | — | 0.116 | 4.593 | 5.003 |
| $\text{trans-Pr}(\text{N}_7)$ | 0.106 | 1.066 | 2.389 | 2.197 |
| $\text{Pr}(\text{D}_2\text{O})$ | 9.894 | 8.817 | 3.017 | 2.799 |
| Im | 9.894 | 8.817 | 3.017 | 2.799 |
| f | | | | |
| $\text{trans-Pr}(\text{N}_7)$ | 1.08 | 13.7 | 2.62×10^2 | 2.80×10^2 |
| $\text{cis-Pr}(\text{N}_7)$ | — | 1.50 | 5.05×10^2 | 6.39×10^2 |

表 1b 体系 2 咪唑与探针(10:1)中各溶液组分在不同时刻的浓度($10^3 c$)和 f 值

Table 1b The concentrations ($10^3 c$) of the species and f values at different time in the system $[\text{Im}]:[\text{Pr}(\text{D}_2\text{O})] = 10:1$

| $[\text{Im}]_0 = 0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ $[\text{Pr}(\text{D}_2\text{O})]_0 = 1.00 \times 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}, 27^\circ \text{C}$ | | | | | |
|--|--------|--------------------|-------|-------|-------|
| t | 20 min | 4 h | 10 h | 22 h | 24 h |
| $\text{cis-Pr}(\text{N}_7)$ | — | 2.501 | 6.215 | 8.583 | 8.718 |
| $\text{trans-Pr}(\text{N}_7)$ | 2.184 | 7.063 | 3.785 | 1.417 | 1.282 |
| $\text{Pr}(\text{D}_2\text{O})$ | 7.816 | 0.4435 | — | — | — |
| Im | 97.82 | 90.436 | 90.00 | 90.00 | 90.00 |
| f | | | | | |
| $\text{trans-Pr}(\text{N}_7)$ | 2.856 | 1.76×10^2 | — | — | — |
| $\text{cis-Pr}(\text{N}_7)$ | — | 0.62×10^2 | — | — | — |

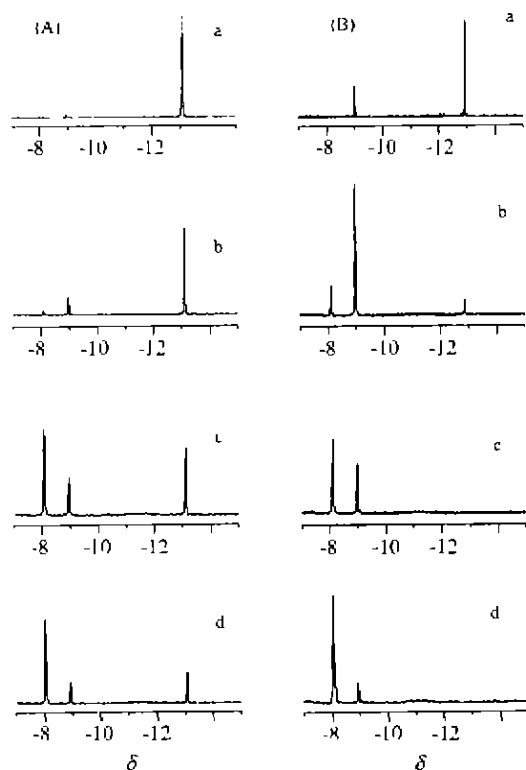


图1 咪唑与探针(不同浓度比下)二元体系在不同反应时间的¹H NMR

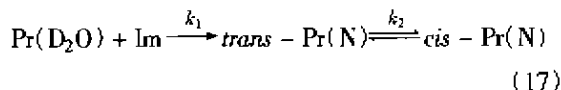
(A) 浓度比 1:1; ([Im] = [Pr] = 0.01 mol·L⁻¹ [NaOTf] = 0.1 mol·L⁻¹). a. 15 min, b. 3 h, c. 41 h

(B) 浓度比 10:1; ([Im] = [NaOTf] = 0.1 mol·L⁻¹ [Pr] = 0.01 mol·L⁻¹). a. 20 min, b. 3 h, c. 10 h, d. 24 h

Fig. 1 The ¹H NMR spectra at different reaction time of the binary system Imidazole and Probe (with different concentration ratio)

(A) concentration ratio 1:1; (B) concentration ratio 10:1

图2给出咪唑与探针(体系2, 浓度比 10:1)二元体系中组分 Pr(D₂O), *trans*-Pr(N)和 *cis*-Pr(N)的浓度随时间的变化曲线, 可以看出, Pr(D₂O), *trans*-Pr(N)和 *cis*-Pr(N)三者符合连续反应的条件, 可用式(17)表出:



以氮配位反式构型的浓度变化为基准, 所得的速率曲线为一折线, 我们认为这是由于此构型同时参与了由 Pr(D₂O)的生成及向 *cis*-Pr(N)的转化两个反应的结果, 即在 Pr(D₂O)向 *trans*-Pr(N)转化的

同时, 出现反式构型 *trans*-Pr(N)向顺式构型 *cis*-Pr(N)的转化, 故而得到 $k_1 = 3.63 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ 和 $k_2 = 6.00 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ 两个表观速率常数.

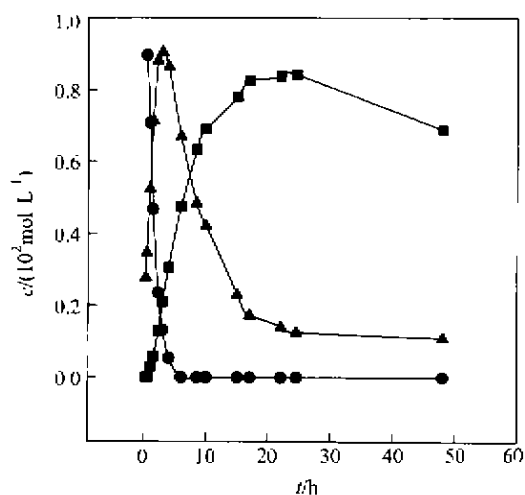


图2 咪唑与探针(浓度比 10:1)二元体系中组分 Pr(D₂O)(●), *trans*-Pr(N)(▲)和 *cis*-Pr(N)(■)的浓度随时间的变化曲线

([Im] = [NaOTf] = 0.1 mol·L⁻¹, [Pr] = 0.01 mol·L⁻¹)

Fig. 2 Concentration vs time plot of the system of imidazole and probe (with concentration ratio 10:1)

在探针的紫外吸收光谱中, 204 nm 处有一个强吸收峰, 该峰被指认为是 $\pi_d(\text{Os}) - \sigma^*(\text{H}_2)$ 跃迁产生的最大吸收峰^[1]. 当体系中加入咪唑时, 最大吸收波长红移至 412 nm 处, 摩尔吸光系数为 $1.28 \times 10^3 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$. 改变咪唑浓度, 用停流监测该体系的反应, 分别求得体系的表观速率常数如表 2, 据此可得相应的表观速率常数-浓度曲线(图 3), 该曲线斜率为 $k_{(\text{Im})} = (1.60 \pm 0.06) \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$, 即该反应的二级表观速率常数为 $(1.60 \pm 0.06) \times 10^{-3} (\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$.

表2 咪唑与探针作用的表现速率常数

Table 2 The k_{obs} in the system of imidazole and probe

| [Im]/(mol·L ⁻¹) | $k/(10^3 \text{ s}^{-1})$ |
|-----------------------------|---------------------------|
| 0.105 | 2.18 |
| 0.306 | 6.30 |
| 0.504 | 8.10 |
| 0.645 | 9.99 |
| 0.809 | 12.5 |

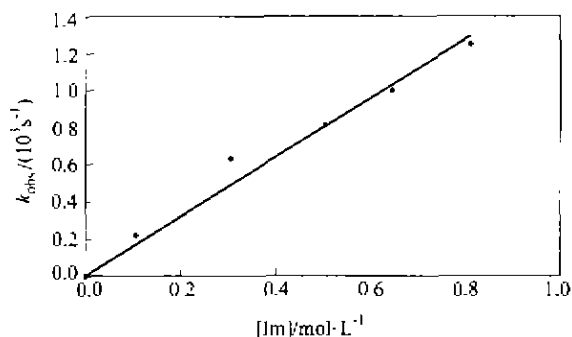


图3 探针与咪唑结合的表现速率常数-咪唑浓度的曲线

$$k_{\text{obs}} = (1.60 \pm 0.06) \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{s}^{-1},$$

$$u = 0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NaOH}, T = 25^\circ \text{C}$$

Fig.1 The k_{obs} vs $[\text{Im}]$ plot of

the system of imidazole and probe

表3a 体系3 磷酸氢二钠与探针(1:1)中各溶液组分在不同时刻的浓度($10^3 c$)和 f 值

Table 3a The concentrations ($10^3 c$) of the species and f values at different time in the system $[\text{Na}_2\text{HPO}_4]:[\text{Pr}(\text{D}_2\text{O})] = 1:1$

| $[\text{Na}_2\text{HPO}_4]_0 = [\text{Pr}(\text{D}_2\text{O})]_0 = 1.00 \times 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}, 27^\circ \text{C}$ | | | |
|--|--------------------|--------------------|--------------------|
| t | 15 min | 4 h | 10 h |
| $c_{\text{is}} - \text{Pr}(\text{phos})$ | — | 0.3586 | 0.9649 |
| $\text{trans} - \text{Pr}(\text{phos})$ | 6.238 | 5.7953 | 5.0688 |
| $\text{Pr}(\text{phos})_{\text{total}}$ | 6.238 | 6.1539 | 6.0337 |
| $\text{Pr}(\text{D}_2\text{O})$ | 3.762 | 3.8461 | 3.9663 |
| Na_2HPO_4 | 3.762 | 3.8461 | 3.9663 |
| f | | | |
| $c_{\text{is}} - \text{Pr}(\text{phos})$ | — | 0.24×10^2 | 0.61×10^2 |
| $\text{trans} - \text{Pr}(\text{phos})$ | 4.41×10^2 | 3.92×10^2 | 3.22×10^2 |
| $\text{Pr}(\text{phos})_{\text{total}}$ | 4.41×10^2 | 4.16×10^2 | 3.84×10^2 |

表3b 体系4 磷酸氢二钠与探针(10:1)中各溶液组分在不同时刻的浓度($10^3 c$)和 f 值

Table 3b The concentrations ($10^3 c$) of the species and f values at different time in the system $[\text{Na}_2\text{HPO}_4]:[\text{Pr}(\text{D}_2\text{O})] = 10:1$

| $[\text{Na}_2\text{HPO}_4]_0 = 0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}, [\text{Pr}(\text{D}_2\text{O})]_0 = 1.00 \times 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}, 27^\circ \text{C}$ | | | | |
|---|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| t | 15 min | 1 h | 1.5 h | 3 h |
| $c_{\text{is}} - \text{Pr}(\text{phos})$ | — | — | 0.4985 | 1.020 |
| $\text{trans} - \text{Pr}(\text{phos})$ | 9.215 | 9.236 | 8.732 | 8.212 |
| $\text{Pr}(\text{phos})_{\text{total}}$ | 9.215 | 9.236 | 9.231 | 9.230 |
| $\text{Pr}(\text{D}_2\text{O})$ | 0.785 | 0.764 | 0.769 | 0.770 |
| Na_2HPO_4 | 90.8 | 90.764 | 90.77 | 90.8 |
| f | | | | |
| $c_{\text{is}} - \text{Pr}(\text{phos})$ | — | — | 7.141 | 14.6 |
| $\text{trans} - \text{Pr}(\text{phos})$ | 1.29×10^2 | 1.33×10^2 | 1.25×10^2 | 1.17×10^2 |
| $\text{Pr}(\text{phos})_{\text{total}}$ | 1.29×10^2 | 1.33×10^2 | 1.32×10^2 | 1.32×10^2 |

当 $[\text{Na}_2\text{HPO}_4] = 0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, $[\text{Pr}] = 0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 体系(体系4)表4反应进行到1~1.5 h时,探针与氧结合的顺式构型已出现, *trans*-Pr(phos)与*cis*-Pr(phos)的积分值之和与Pr(D_2O)积分值之比始终保持不变(图4b),由于3 h以后体系衰减得比较大,式(10)并未达平衡,故据此只可得Pr(phos)_{total}的形成反应[式(10)]的平衡函数 $K_{\text{I}(\text{phos})} = 1.32 \times 10^2$;顺反式构型转化[式(6)]的平衡函数为0.124,与体系3中的0.19接近.由于探针与磷酸氧配位的反式与顺式构型之间的转化发生在式(3)达到平衡之后,所以体系3,4中存在*trans*-Pr(phos)的形成和Pr(phos)的顺、反式转化[式(3),(6)]两个分立的反应,而不象体系1,2中那样存在一个连续反应.与体系1,2相比,在体系3,4中,探针与磷酸氧结合的反式构型比较稳定;而在体系1,2中,探针与咪唑氮结合的顺式构型为最终结合状态.

由于探针与磷酸氧配位为动力学优先反应,在利用核磁进行第一次测定时,Pr(phos)_{total}的形成反应[式(10)]即已达到平衡.所以利用核磁手段只可得到顺反构型转化反应[式(6)]的表现速率常数为 $k_{\text{c} \rightarrow \text{t}} = k_2 = 1.94 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$.

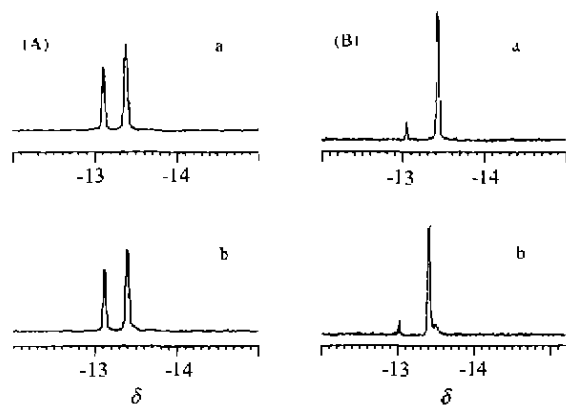


图4 磷酸氢二钠与探针(在不同浓度比下)二元体系在不同反应时间下的 ^1H NMR

(A) 浓度比 1:1; $[\text{Na}_2\text{HPO}_4] = [\text{Pr}] = 0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$,

$[\text{NaOTf}] = 0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$. a. 15 min, b. 3 h

(B) 浓度比 10:1; $[\text{Na}_2\text{HPO}_4] = [\text{NaOTf}] = 0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$

$[\text{Pr}] = 0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$. a. 23 min, b. 3 h

Fig. 4 The ^1H NMR spectra at different reaction time of the binary system Na_2HPO_4 and probe (with different concentration ratio)

(A) concentration ratio 1:1; (B) concentration ratio 10:1

2.3 探针与磷酸二氢钠的配位作用及其动力学研究

在磷酸二氢钠与探针作用的体系(体系5,6)

中, ^1H NMR谱上的吸收峰位与磷酸氢二钠体系中的峰位相同.只是无论在 $[\text{NaH}_2\text{PO}_4]:[\text{Pr}] = 1:1$ 体系中(体系5),还是在 $[\text{NaH}_2\text{PO}_4]:[\text{Pr}] = 10:1$ 体系(体系6)中,Pr(phos)的峰强度均小于Pr(D_2O)的峰强.这可能是由于 H_2PO_4^- 上的负电荷数少于 HPO_4^{2-} ,而使亲核性减小,与探针的中心金属Os的配位作用减弱的缘故.

在探针与磷酸二氢钠的紫外光谱中有3个最大吸收峰,它们分别位于240 nm, 290 nm和322 nm处,利用停留监测290 nm处的峰($\epsilon = 2.71 \times 10^3 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$),所得探针与磷酸氢二钠的反应动力学数据见表4,与同浓度的含咪唑体系相比,磷酸二氢钠体系反应表现速率常数显然大得多.该反应的二级表现速率常数为 $k_{\text{f}} = (2.25 \pm 0.067) \times 10^{-3} (\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ (图5).

表4 磷酸二氢钠与探针作用的表现速率常数 k_{obs}

Table 4 The k_{obs} values in the system of NaH_2PO_4 and probe

| [磷酸二氢钠]/(mol·L ⁻¹) | $k/(10^3 \text{ s}^{-1})$ |
|--------------------------------|---------------------------|
| 0.102 | 2.25 |
| 0.301 | 6.74 |
| 0.500 | 11.2 |
| 0.801 | 18.0 |
| 1.001 | 22.5 |

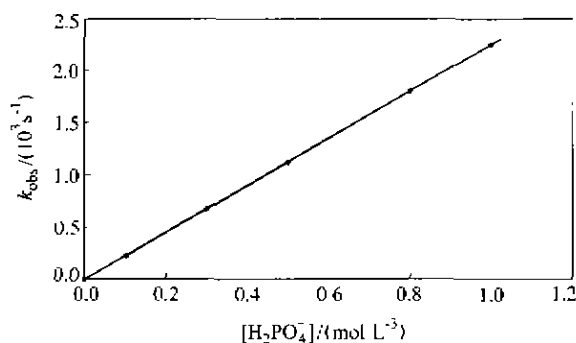


图5 探针与磷酸二氢钠结合的表现速率常数-磷酸二氢钠浓度曲线

$k_{\text{f}} = (2.25 \pm 0.067) \times 10^{-3} \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$,

$\mu = 0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{NaOTf}$, pH = 3.99

Fig. 5 The k_{obs} vs $[\text{NaH}_2\text{PO}_4]$ plot of the system of NaH_2PO_4 and probe

2.4 探针与脱氧鸟苷酸(dGMP)的配位及动力学

探针可与dGMP(体系7)的磷酸氧及碱基氮发生配位作用^[4],前者是动力学优先,反应15 min即

可完成,由表5实验结果,可算得其结合常数为 3.07×10^3 ,其特征峰在 $\delta = -13.5$ 处;探针与碱基氮配位(在 $\delta = -9.7$ 处出现其特征峰)为热力学优先,反应 24 h 后,探针全部与碱基 N_7 配位.探针与碱基氮配位在 40 h 的平衡常数经我们多次实验证明为 2.51×10^5 ,而不是文献[2]中报道的 2.9×10^3 .含双配位基的 dGMP 体系与只含单配位基咪唑及磷酸氢二钠的体系相比, $\text{Pr}(\text{D}_2\text{O})$, $\text{trans} - \text{Pr}(\text{N}_7)$, $\text{Pr}(\text{phos})$ 的核磁化学位移向高场移动,而 $\text{cis} - \text{Pr}(\text{N}_7)$ 的核磁化学位移向低场移动(见表6).同时峰强,反应表现速率常数以及探针与氮的结合平衡函数也有很大的

不同.含 dGMP 体系的反应初始阶段, $\text{Pr}(\text{phos})$ 的峰强度弱于 $\text{Pr}(\text{D}_2\text{O})$ 和 $\text{trans} - \text{Pr}(\text{N}_7)$ 的峰强.随着反应的进行, $\text{Pr}(\text{phos})$ 峰逐渐减弱,48 h 内没有顺式氧峰的出现;反应 2~3 h 时,顺式氮峰出现(见图 6a),40 h $\text{Pr}(\text{N}_7)$ 的反式构型向顺式构型转化的平衡函数为 0.15.含双配位基体系 8 反应进行 15 min 时, $\text{Pr}(\text{phos})$ 的峰强度近似于 $\text{trans} - \text{Pr}(\text{N}_7)$ 的峰强,而远大于 $\text{Pr}(\text{D}_2\text{O})$ 的峰强, $\text{Pr}(\text{phos})$ 和 $\text{Pr}(\text{D}_2\text{O})$ 逐渐向 $\text{Pr}(\text{N}_7)$ 转化.反应 2 h 后,探针全部与碱基 N_7 配位;在 2~3 h 之间出现了顺式氮峰(图 6b).

表 5 体系 7 脱氧鸟苷酸与探针(1:1)中各溶液组分在不同时刻的浓度 $10^3 c$ 和 f 值

Table 5 The concentrations ($10^3 c$) of the species and f values at different time in the system $[\text{dGMP}]:[\text{Pr}(\text{D}_2\text{O})] = 1:1$

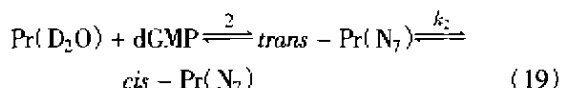
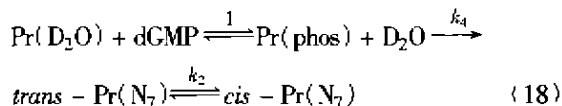
| $[\text{dGMP}]_0 = [\text{Pr}(\text{D}_2\text{O})]_0 = 1.00 \times 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}, 27^\circ\text{C}$ | | | | |
|---|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| t | 15 min | 1 h | 8 h | 40 h |
| $\text{cis} - \text{Pr}(\text{N}_7)$ | — | — | 0.253 | 1.261 |
| $\text{trans} - \text{Pr}(\text{N}_7)$ | 5.008 | 8.270 | 8.517 | 8.541 |
| $\text{Pr}(\text{D}_2\text{O})$ | 2.722 | 1.15 | 1.065 | 0.1975 |
| $\text{Pr}(\text{phos})$ | 2.271 | 0.456 | 0.1653 | — |
| dCMP | 2.721 | 1.676 | 1.065 | 0.1975 |
| f | | | | |
| $\text{cis} - \text{Pr}(\text{N}_7)$ | — | — | 2.23×10^2 | 3.23×10^4 |
| $\text{trans} - \text{Pr}(\text{N}_7)$ | 6.76×10^2 | 4.29×10^3 | 7.51×10^3 | 2.19×10^5 |
| $\text{Pr}(\text{N}_7)_{\text{total}}$ | 6.76×10^2 | 4.29×10^3 | 7.73×10^3 | 2.51×10^5 |
| $\text{Pr}(\text{phos})$ | 3.07×10^2 | 2.37×10^2 | 1.46×10^2 | — |

表 6 各体系中核磁峰的化学位移(δ)

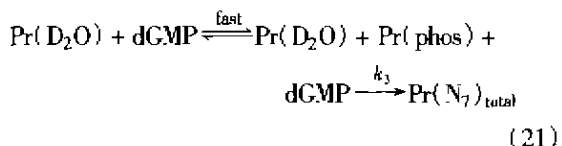
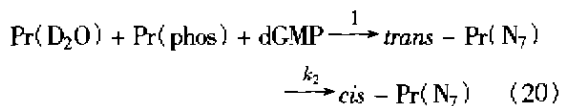
Table 6 The chemical shifts (δ) of the NMR peak of the systems 1~12

| 配位峰 | $\text{Pr}(\text{D}_2\text{O})$ | $\text{trans} - \text{Pr}(\text{N}_7)$ | $\text{cis} - \text{Pr}(\text{N}_7)$ | $\text{trans} - \text{Pr}(\text{phos})$ | $\text{cis} - \text{Pr}(\text{phos})$ | $\text{Pr}(\text{Cl})$ |
|-------|---------------------------------|--|--------------------------------------|---|---------------------------------------|------------------------|
| 体系 1 | -13.150 | -9.006 | -8.124 | — | — | — |
| 体系 2 | -12.933 | -9.001 | -8.121 | — | — | — |
| 体系 3 | -13.162 | — | — | -13.439 | -13.522 | — |
| 体系 4 | -13.055 | — | — | -13.435 | -13.505 | — |
| 体系 7 | -13.178 | -9.709 | -7.753 | -13.559 | — | — |
| 体系 8 | -13.230 | -9.721 | -7.766 | -13.567 | — | — |
| 体系 9 | -13.168 | -9.671 | -7.780 | — | — | -13.231 |
| 体系 10 | -13.215 | -9.710 | -7.765 | -13.576 | — | — |
| 体系 11 | -13.171 | -9.677 | -7.778 | — | — | -13.200 |
| 体系 12 | -13.233 | -9.719 | -7.771 | -13.576 | — | — |

图 7 给出 dGMP 与探针(体系 8, 浓度比 10:1)二元体系中组分 $\text{Pr}(\text{D}_2\text{O})$, $\text{Pr}(\text{phos})$, $\text{trans} - \text{Pr}(\text{N})$ 和 $\text{cis} - \text{Pr}(\text{N})$ 的浓度随时间的变化曲线. 从图 7 可知, 含双配位基体系 7, 8 存在着两个链式反应:



由于探针与磷酸氧的配位〔式(3)〕, 即 $\text{Pr}(\text{phos})$ 的形成反应速度太快, 无法用超导核磁谱仪测知其表观速率常数, 在式(3)达到平衡后, $\text{Pr}(\text{D}_2\text{O})$, $\text{Pr}(\text{phos})$ 均向 $\text{trans} - \text{Pr}(\text{N}_7)$ 转化, 因此我们将 $\text{Pr}(\text{D}_2\text{O})$, $\text{Pr}(\text{phos})$ 看成一体, 测定了反应(20), (21)在此浓度比下的表观速率常数(见表 8).



与单配位基的咪唑和磷酸氢二钠体系相比, 含脱氧鸟苷酸体系中探针与碱基氮结合的反应平衡函数要大得多, 这可能是由于脱氧鸟苷酸分子中存在一个比咪唑分子大得多的共轭体系及一个推电子的糖环, 从而使得碱基氮上的电子云密度增大, 更易与正性的 $\text{Os}(\text{II})$ 配位的缘故; 探针与磷酸氧结合很快达到平衡后, 咪唑氮与磷酸氧竞争结合探针的第六配位位点, 在核磁谱上表现为磷酸氧与探针的结合减弱, 而咪唑氮与探针的结合增强, 于是, 磷酸氧与探针的配位, 逐渐转化为探针与碱基氮的配位.

2.5 用探针以竞争模式研究二氯二甲基锡、二氯二丁基锡与脱氧鸟苷酸的配位及其动力学

由于 $\text{Sn}(\text{IV})$ 为硬 Lewis 酸, 而 $\text{Os}(\text{II})$ 则为软 Lewis 酸, 磷酸根氧原子与 $\text{Sn}(\text{IV})$ 键合能力强而优先与其键合, 故而在 1:1:1 的含甲基和丁基锡的三元体系 9 和 11 的核磁谱上(图 8a, 8b), 探针中 $\text{Os}(\text{II})$ 与磷酸氧原子在 $\delta = -13.56$ 处的配位峰几乎检测不到, 这个现象表明锡与磷酸根更易配位. 反应 4 h 左右, 顺式氮峰出现. 由于有机锡的氯离子在水溶液中离解, 在谱图上出现一个新的 $\text{Pr}(\text{Cl})$ 峰, 其化学位移在 $\delta = -13.23$ 处. 由实验数据(表 7a, b)可算得, 在含甲基锡(体系 9)三元体系中, 48h 探针与

咪唑氮结合的 $\text{trans} - \text{cis}$ 顺构型转化平衡函数为 1.226; 在含丁基锡(体系 11)三元体系中, 48 h $\text{Pr}(\text{N}_7)$ $\text{trans} - \text{cis}$ 式转化的平衡函数为 0.99.

在 dGMP 浓度高出另二组分 10 倍的含甲基锡(体系 10)和丁基锡(体系 12)的三元体系. 由于 dGMP 浓度大, 反应初始阶段, 探针与磷酸氧的结合峰很明显. 但抗癌剂与探针竞争磷酸氧, 而咪唑氮也与探针竞争磷酸氧, 因此反应 24 h 后, 探针全部与咪唑氮配位(图 9a, 9b). 48 h, $\text{Pr}(\text{N}_7)$ 的反式构型向顺式构型转化的平衡函数分别为 0.56 和 0.39. 加入药剂后, 仍然存在与二元体系 8 完全相同的链式反应. 对于反应(19)~(21), 分别求得表观速率常数见表 8.

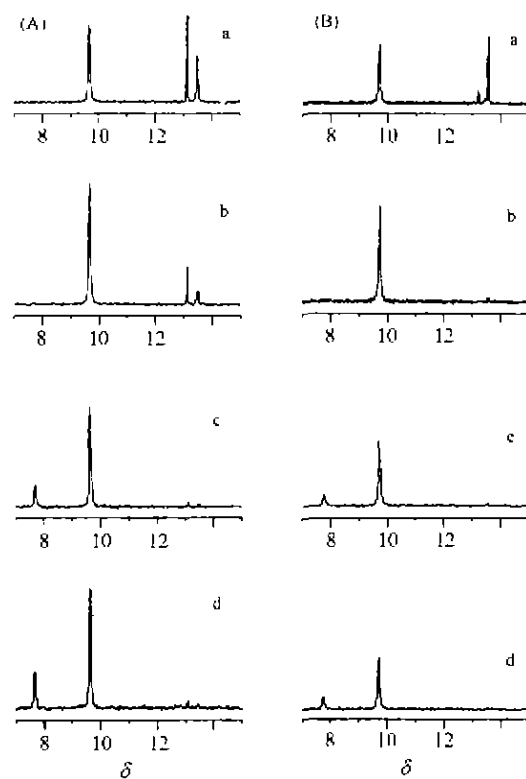


图 6 脱氧鸟苷酸与探针(不同浓度比下)二元体系在不同反应时间的 ^1H NMR

(A) 浓度比 1:1; $[\text{dGMP}] = [\text{Pr}] = 0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, $[\text{NaOTf}] = 0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$

a. 15 min, b. 1 h, c. 15 h, d. 24 h

(B) 浓度比 10:1; $[\text{dGMP}] = [\text{NaOTf}] = 0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, $[\text{Pr}] = 0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$

a. 17 min, b. 1.5 h, c. 15 h, d. 24 h

Fig. 6 The ^1H NMR spectra at different reaction time of the binary system dGMP and probe (with different concentration ratio)

(A) concentration ratio 1:1; (B) concentration ratio 10:1

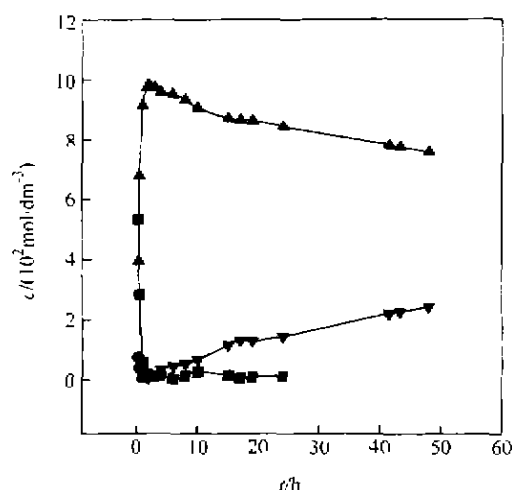


图7 脱氧鸟苷酸与探针(浓度比 10:1)二元体系中 $\text{Pr}(\text{D}_2\text{O})$ (■), $\text{trans-Pr}(\text{N}_7)$ (▲), $\text{cis-Pr}(\text{N}_7)$ (▼) 和 $\text{Pr}(\text{phos})$ (●) 的浓度随时间的变化曲线

($[\text{dGMP}] = [\text{NaOTf}] = 0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, $[\text{Pr}] = 0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)

Fig.7 The concentration of the species vs time plot in the binary system of dGMP and probe (with concentration ratio 10:1)

表 7a 体系 9 在不同时刻各物种的浓度 ($10^3 c$)

Table 7a The concentrations ($10^3 c$) of species at the different time in the system 9

| t | 20 min | 4 h | 24 h | 48 h |
|---------------------------------|--------|--------|--------|--------|
| $\text{cis-Pr}(\text{N}_7)$ | 0.1208 | 0.3029 | 2.9108 | 4.9620 |
| $\text{trans-Pr}(\text{N}_7)$ | 3.5004 | 7.5082 | 5.8409 | 4.0449 |
| $\text{Pr}(\text{D}_2\text{O})$ | 4.7250 | 1.5245 | 0.8568 | 0.6972 |
| dGMP | 6.3788 | 2.1889 | 1.2483 | 0.9971 |

$[\text{Me}_2\text{SnCl}_2] = [\text{Pr}] = [\text{dGMP}] = 1 \times 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$

表 7b 体系 11 在不同时间下各物种的浓度 ($10^3 c$)

Table 7b The concentrations ($10^3 c$) of species at the different time in the system 11

| t | 20 min | 4 h | 24 h | 48 h |
|---------------------------------|--------|--------|--------|--------|
| $\text{cis-Pr}(\text{N}_7)$ | 0.0558 | 0.3676 | 2.6861 | 4.5973 |
| $\text{trans-Pr}(\text{N}_7)$ | 5.3861 | 8.4701 | 6.3430 | 4.6430 |
| $\text{Pr}(\text{D}_2\text{O})$ | 3.6348 | 0.9134 | 0.8057 | 0.5661 |
| dGMP | 4.5581 | 1.1624 | 0.9708 | 0.7598 |

$[\text{Bu}_2\text{SnCl}_2] = [\text{Pr}] = [\text{dGMP}] = 1 \times 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$

表 8 反应的表现速率常数及平衡常数

Table 8 The k_{obs} values and equilibrium constants of the reactions

| 体系 | 体系 2 | 体系 4 | 体系 8 | 体系 10 | 体系 12 |
|----------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| k_1 | $3.6 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ | — | $2.14 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ | $3.8 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ | $1.5 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ |
| k_2 or k_2 | $6.00 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ | $1.94 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ | $1.70 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ | $1.8 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ | $1.5 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ |
| k_{-2} | $9.43 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$ | $3.60 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ | $4.20 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ | $3.2 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ | $3.7 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ |
| k_3 | $2.21 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ | — | $6.50 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ | $5.0 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ | $6.8 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ |
| k_4 | — | — | $6.20 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ | $5.3 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ | $6.4 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ |
| f_1 | 1.76×10^2 | — | 2.19×10^5 | — | — |
| f_2 or f_2 | 6.36 | 0.55 | 0.41 | 0.56 | 0.39 |
| f_3 | 2.69×10^2 | — | 2.51×10^5 | — | — |

本文的结果表明:当体系中仅有磷酸氧一个结合位点时,探针与磷酸氧的配位结合很快达到平衡, $\text{Pr}(\text{phos})$ 的浓度保持稳定不变.当仅有咪唑氮或咪唑氮和磷酸氧两个配位位点同时存在时,体系最后配合状态为 $\text{Pr}(\text{N}_7)$,且 $\text{Pr}(\text{N}_7)$ 的顺式构型与反式构型达到平衡.顺式构型的出现时间及反-顺转化的平衡常数大小与体系的 pH 有很大关系.实验表明:碱性越强,顺式构型出现得越早,顺反转化平衡常数越大.这说明碱性条件下,顺式构型稳定.

含药体系 10, 12 与不含药体系 8 在相同反应时间下比较, $\text{Pr}(\text{phos})$ 的浓度相差很大,说明有机锡药

物主要与探针竞争磷酸氧,与咪唑氮仅是微弱的结合.这是因为 $\text{Sn}(\text{IV})$ 为硬路易斯酸, $\text{Os}(\text{II})$ 为软路易斯酸,磷酸氧为硬碱,咪唑氮是软碱的缘故.符合硬亲硬,软亲软的原则.由于此二种含锡药物与咪唑氮仅有极微弱的结合,不能对 DNA 造成严重损伤,所以它们不是好的抗癌剂,此结果为杨频提出的两极互补原理^[3]中的“作用方式的两极互补”提供了证据.文中还阐明了探针与咪唑、磷酸氢二钠、脱氧鸟苷酸的配位作用及动力学过程,为药物及二聚核苷酸、寡聚核苷酸甚至 DNA 体系的定量或半定量研究奠定了基础.

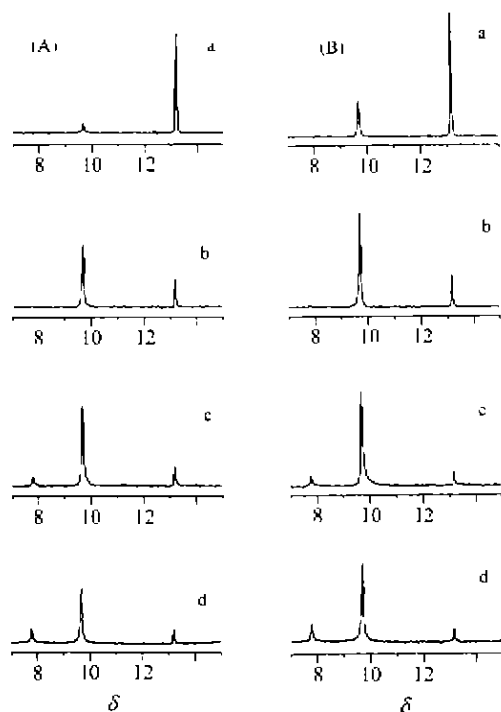


图8 脱氧鸟苷酸与探针、二氯二甲基锡和脱氧鸟苷酸与探针、二氯二丁基锡三元体系

在不同反应时间的 ^1H NMR(浓度比 1:1:1)

(A) $[\text{dGMP}] = [\text{Pr}] = [\text{Me}_2\text{SnCl}_2] = 0.01 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$,

$[\text{NaOH}] = 0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$

a. 11 min, b. 4 h, c. 24.3 h, d. 47.5 h

(B) $[\text{dGMP}] = [\text{Pr}] = [\text{Bu}_2\text{SnCl}_2] = 0.01 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$,

$[\text{NaOH}] = 0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$

a. 15 min, b. 4 h, c. 25 h, d. 47.5 h

Fig. 8 The ^1H NMR spectra at different reactoin time of the ternary system: dGMP, probe and Me_2SnCl_2 , and the ternary system: dGMP, probe and Bu_2SnCl_2 (concentration ratio 1:1:1)

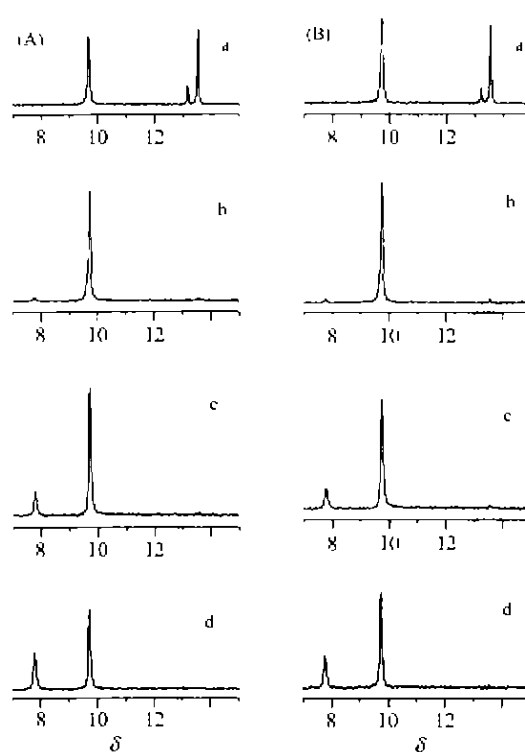


图9 脱氧鸟苷酸与探针、二氯二甲基锡和脱氧鸟苷酸与探针、二氯二丁基锡三元体系

在不同反应时间的 ^1H NMR(浓度比 10:1:1)

(A) $[\text{dGMP}] = [\text{NaOH}] = 0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$,

$[\text{Pr}] = [\text{Me}_2\text{SnCl}_2] = 0.01 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$

a. 12 min, b. 4 h, c. 24.3 h, d. 48 h

(B) $[\text{dGMP}] = [\text{NaOH}] = 0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$,

$[\text{Pr}] = [\text{Bu}_2\text{SnCl}_2] = 0.01 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$

a. 17 min, b. 3 h, c. 24 h, d. 49 h

Fig. 9 The ^1H NMR spectra at different reactoin time of the ternary system: dGMP, probe and Me_2SnCl_2 , and the ternary system: dGMP, probe and Bu_2SnCl_2 (concentration ratio 1:1:1)

References

1. Li, Z. - W. In *Dihydrogen Complexes of Osmium Tetraammines: Preparation, Characterization, Reactivity and Applications*, 1993, 159.
2. Li, Z. - W.; Taube, H. *Science*, 1992, 26, 210.

3. Yang, P.; Guo, M. - L. *Coordination Chemistry Reviews*, 1999, 185/186, 189.
4. Yang P.; Guo M. - L.; Li Q. - S.; Tian, Y. - N.; Zai, W. - L.; Taube, H. *Science in China (Series B)*, 1997, 40(5), 541
5. Li, Z. - W.; Taube, H. *J. Am. Chem. Soc.*, 1991, 113, 8946

(Ed. SHEN Hong)

(DONG Hua - Zhen)