•研究论文•

[Cr(III)(4-ASA)(en)2]CI 配合物的光化学活性

刘 斌 孙占国 杨斌盛*

(山西大学分子科学研究所化学生物学与分子工程教育部重点实验室 太原 030006)

摘要 通过吸收光谱、荧光光谱、电导率和 ESI-MS 质谱等方法讨论了铬配合物[Cr(III)(4-ASA)(en)₂]Cl (4-ASA: 4-aminosalicylic acid dianion, en: ethylenediamine)在不同温度、不同 pH 溶液中的稳定性及光化学稳定性. 实验表明, 该配合物的溶液(pH 7.4)在日光照射下发生了光化学取代反应,取代产物为[Cr(4-ASA)(en)(H₂O)₂]⁺. 同时研究了配合物及其光照产物对 EDTA 的动力学反应和对 DNA 的切割反应. 琼脂糖凝胶电泳实验表明, 配合物的光化学产物 [Cr(4-ASA)(en)(H₂O)₂]⁺能有效切割 pBR 322 DNA.

关键词 铬(III)配合物;光化学; DNA 切割

Photochemical Activities of Chromium(III) Complex [Cr(III)(4-ASA)(en)₂]Cl

LIU, Bin SUN, Zhan-Guo YANG, Bin-Sheng*

(Key Laboratory of Chemical Biology and Molecular Engineering, Ministry of Education, Institute of Molecular Science, Shanxi University, Taiyuan 030006)

Abstract The stability, photochemistry activities and kinetic reaction of chromium complex [Cr(III)(4-ASA)-(en)₂]Cl•2H₂O (4-ASA: 4-aminosalicylic acid dianion, en: ethylenediamine) were discussed by means of UV-visible, fluorescence spectra, conductivity and electrospray ionization mass spectrometry. The complex is sensitive to light. The photochemistry product was deduced to be [Cr(4-ASA)(en)(H₂O)₂]⁺, and then the Gel electrophoresis of plasmid DNA shows that the photochemistry product can promote the cleavage of pBR 322 DNA efficiently.

Keywords chromium(III) complex; photochemistry; DNA damage

铬是生物必需的微量元素, 在酶的催化和加强糖代 谢等方面具有重要作用^[1~5]. 铬能增强组织对胰岛素的敏 感性, 补充适量有机铬的化合物可以降低血糖、改善糖耐 量以及预防心脑血管疾病的发生^[6,7]. 目前用于营养补铬 品的有机铬(III)化合物主要有烟酸铬、氨基酸铬和吡啶甲 酸铬 Cr(pic)₃等, 其中 Cr(pic)₃配合物是当前应用最广泛 的营养补铬品^[8]. 然而, 由于 Cr(pic)₃可能引起染色体损 伤和 DNA 的突变, 诱发癌症等疾病的发生^[9,10], 它的使 用引起了人们的怀疑. 迄今为止, 天然铬的存在形式、 转运机制及生理功能等尚不明确^[11~14]. 目前人们已提 出多种关于生物铬的作用机理,有胞内模型^[15,16]、胞外 模型^[17]和氧化还原模型^[18,19]等.

前期我们合成、表征了一种铬配合物晶体 [Cr(III)(4-ASA)(en)₂]Cl,研究了其与转铁蛋白(apoOTf) 的动力学转运机理,表明铬离子与转铁蛋白结合时, 4-氨基水杨酸根(4-ASA)充当了伴阴离子^[20].为了进一 步扩大其在分子生物学领域的应用,本文中除了重点研 究其光化学反应外,还研究了配合物及其光化学产物对 DNA 的断裂反应.初步研究证明,其光化学产物 [Cr(4-ASA)(en)(H₂O)₂]⁺能高效切割 DNA.

* E-mail: yangbs@sxu.edu.cn
 Received December 12, 2007; revised April 29, 2008; accepted July 7, 2008.
 国家自然科学基金(No. 20771068)、山西省自然科学基金(No. 2007011024)和太原市大学生创新创业专项(No. 08122095)资助项目.

1 实验部分

1.1 试剂和仪器

pBR 322 DNA (0.5 μg/μL)和琼脂糖(Agrose)购于 Takara 公司; 溴化乙锭(EB)和溴酚蓝购于 Fluka 公司; 4-氨基水杨酸(4-aminosalicylic acid, 4-ASA)购于 Alfa Aesar 公司, 配合物[Cr(4-ASA)(en)₂]Cl 按文献[20]合成. 无水乙二胺 (ethylenediamine, en), 乙二胺四乙酸 (EDTA), 柠檬酸(CIT), 磷酸氢二钠等均为分析纯试剂.

Hitachi 850 型荧光光谱仪, HP 8453 UV-Vis 吸收光 谱仪, 微量加样器(eppendorf), DDS-307 电导率仪(上海雷 磁仪器厂), Shimadzu TB-85 水浴自动控温器, MICRO-MASS, Quattro micro[™] API EMS 质谱仪, DYYIII 电泳仪 (北京六一仪器厂), GENE GENIUS 凝胶成像分析系统.

1.2 实验方法

1.2.1 配合物光化学反应

用 Na₂HPO₄-CIT 缓冲液(pH 2.3~7.4)^[21]配置一定量的[Cr(4-ASA)(en)₂]Cl 溶液,在不同 pH 和不同温度条件下监测其吸收光谱的变化.

用 0.01 mol•L⁻¹ Tris-HCl (pH 7.4)缓冲液配制 1× 10⁻³ mol•L⁻¹ [Cr(4-ASA)(en)₂]Cl 溶液,日光照射不同时 间,监测其吸收光谱和荧光光谱随时间的变化.

用蒸馏水配置 1×10^{-3} mol•L⁻¹ [Cr(4-ASA)(en)₂]Cl 溶液,日光照射不同时间,用电导率仪监测溶液电导的 变化,T=25 ℃.

用蒸馏水配置 1×10⁻³ mol•L⁻¹ [Cr(4-ASA)(en)₂]Cl 溶液,用 EMS 质谱仪监测其光照前后的物种变化(进样 速度 60 µL•min⁻¹, 4.5 kV 电压, 200 ℃).

1.2.2 配合物及其光化学产物与 EDTA 的动力学反应

在 0.01 mol•L⁻¹ Tris-HCl缓冲溶液, pH 7.4条件下配 制配合物溶液或配合物光照产物(1.0×10^{-4} mol•L⁻¹)溶 液,分别加入 10 倍量的 EDTA, 置于 37 ℃恒温水浴中 反应,监测紫外及荧光光谱随时间的变化.

1.2.3 配合物及光化学产物与 DNA 反应

配制不同浓度的金属配合物溶液,向几个 Eppendorf 管中依次加入预定量的反应缓冲液(10 mmol/L Tris-HCl, 6.2 mmol/L NaCl, pH=7.3),配合物溶液(包括未光照和 光照)及 0.05 μg/μL pBR322 DNA 2 μL,反应体系终体 积为 10 μL,振荡器混匀,离心,37 ℃恒温水浴加热;制 备凝胶,实时加入 2 μL 溴酚蓝终止液,在 90 V 电压的 条件下电泳 2 h,用凝胶成像系统分析电泳结果.

2 结果与讨论

2.1 不同 pH、不同温度下配合物的稳定性图 1 是配合物[Cr(4-ASA)(en)₂]Cl 在不同 pH 条件下

吸收光谱随时间的变化. 由图 1 可知, 随着 pH 的降低, 配合物在 320 nm 处的特征吸收峰逐渐减低(a→e), 298 nm 处吸收峰逐渐升高, 在410, 315 和268 nm 处出现三个 等吸收点. 298 nm 处是 4-氨基水杨酸的特征吸收峰 (π - π *), 与铬(III)配位后红移至 320 nm. 由图 1 可知, 配合 物在酸性条件下逐渐分解, 离解出自由的水杨酸根离子. 酸性愈强, 配合物分解越快, 在 pH 2.3 时约需 40 h 分解 完全(图略). 这是由于在酸性条件下, H⁺与 Cr³⁺对配体产 生竞争. 在碱性条件下, Cr³⁺会发生水解聚合反应,导致 配合物分解. 实验表明配合物在 pH 7.4 缓冲液中稳定.



图1 在不同 pH 条件下配合物的吸收光谱

Figure 1 The UV-Vis spectra of complex in different pH condition

a \rightarrow e: pH=7.4, 6.0, 5.0, 4.0, 2.3. [Cr(4-ASA)(en)₂]Cl= 2.0×10^{-5} mol·L⁻¹, 72 h

图 2 为不同温度下配合物溶液(pH 7.4)在可见区的 吸收光谱. 配合物在 510 nm 处的弱吸收峰归属为铬的 d-d 跃迁峰. 铬(III)是 d³组态, ${}^{4}F$ 是基谱项, 电子在两个 四重态间的跃迁 ${}^{4}A_{2g}(F) \rightarrow {}^{4}T_{1g}(F)$ 与这个峰对应^[22]. 由图 2 可知, 不同温度下配合物 d-d 跃迁光谱基本没有变化; 将该浓溶液稀释后,紫外区的吸收光谱也没有改变. 说 明 pH 7.4 时配合物在 55 ℃以下的溶液中稳定存在.







a \rightarrow e: 35, 40, 45, 50, 55 °C. [Cr(4-ASA)(en)₂]Cl= 2.22×10^{-3} mol·L⁻¹, 60 min

2.2 光照条件下配合物的稳定性

2.2.1 光照条件下配合物光谱变化

图 3 为低浓度的[Cr(4-ASA)(en)2]Cl 溶液在日光照 射前后的荧光光谱变化. 由图 3 可见, 4-氨基水杨酸在 410 nm 处有很强的荧光、当与 Cr³⁺配位后 410 nm 处的 荧光几乎被完全淬灭. 照射后配合物荧光强度略有增 强. 图 4 为配合物溶液在照射前后的吸收光谱变化. 由 图 4 可知, 吸收光谱在照射前后基本不变. 图 5 为高浓 度的配合物溶液在日光照射下吸收光谱的变化. 在图 5 中, 510 nm 处弱吸收峰为配合物[Cr(4-ASA)(en)2]Cl 的 d-d 跃迁峰, 在光照后, 该峰出现明显改变, 逐渐红移至 550 nm 处(曲线 1→8), 吸光度减小, 溶液颜色由粉红色 褪为无色, d-d 跃迁峰的明显改变说明了铬离子的配位 环境发生了变化. 将该溶液稀释后观测其紫外区的吸收 图谱, 与未经光照的吸收图谱对照, 基本没有变化(曲 线9), 可知4-氨基水杨酸配体仍然以双齿方式与铬离子 配位. 初步推测可能是乙二胺配体的解离导致了配合物 d-d 跃迁峰的改变.





Figure 3 Fluorescence spectra of complex before and after irradiation





Figure 4 Absorption spectra of complex before and after irradiation



图 5 配合物在光照不同时间后的吸收光谱

Figure 5 The UV-Vis spectra of complex irradiated for different time

 $1 \rightarrow 9$: 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 90, 90 min. [Cr(4-ASA)(en)₂]Cl= $1 \rightarrow 8$: $1.0 \times 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$; 9: $2.6 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$

铬(III)配合物的光化学已经成为无机光化学的世纪 主题^[23]. 关于[Cr(en)₂X₂]型配合物(X=Cl⁻, Br⁻, F⁻, Γ , SCN⁻, H₂O, N³⁻, OH⁻, C₂O₄²⁻, 1/2C₂O₄²⁻)的光化学稳 定性己有许多报道. Krik^[24-26]研究了[Cr(en)₂OX]²⁻和 [Cr(en)(OX)₂]⁻的光化学反应 (OX=C₂O₄²⁻),钱东金 等^[27]研究了硫代草酸二乙二胺铬(III)配合物的光化学, 研究均表明,该类铬配合物在光照条件下其一个乙二胺 配体不稳定,易被 H⁺质子化,从金属离子上解离下来, 空 缺 配 位 点 由 两 个 水 分 子 代 替,终 产 物 为 [Cr(en)(H₂O)₂(OX)^e_{ef}.

配体的改变对 d 轨道的分裂能影响很大, 按照配体 的配位场强度增加的顺序^[28],光谱化学序列如下: □< $Br^{-} < S^{2-} < SCN^{-} < Cl^{-} < NO_3 < F^{-} < OH^{-} < OX^{2-} < Cl^{-} < NO_3 < F^{-} < OH^{-} < OX^{2-} < Cl^{-} < OH^{-} < OX^{2-} < Cl^{-} < OH^{-} < OX^{2-} < Cl^{-} < OH^{-} < OH$ $H_2O < NCS^- < CH_3CN < NH_3 < en < dipy < phen <$ NO₂ <PR₃<CN⁻<CO. 从该序列可以看出, 如果配体 具有 π 对称性,它们与金属配位时可以作为 π 电子给体 (如卤离子的 p 轨道)或 π 电子受体(如 CO 的 π^* , PR₃的 d 轨道), 那么它们可以和金属离子有 π 对称性的 t_{2g}轨道 相互作用, 改变分裂能. 配位原子从 F→O→N, π电子能 力减弱, π 接受电子能力增强, 因此吸收光谱的频率增 高. 由于 H₂O 的晶体场分裂能比 en 低, en 被 H₂O 所取 代后, 铬离子的 d-d 跃迁峰向长波方向移动. 如从 $[Cr(en)_3]^{3+}$, $[Cr(en)_2(H_2O)_2]^{3+}$, *c*-[Cr(CN)_2(H_2O)_4] ⁺ 到 [Cr(H₂O)₆]³⁺的跃迁峰依次由 448, 500, 540 红移至 574 nm. 本实验中, 配合物[Cr(4-ASA)(en)2]Cl 的 d-d 跃迁峰 在510 nm 左右, 接近于[Cr(en)2(H2O)2]3+在500 nm 处 d-d 跃迁峰. 若只考虑与金属离子直接配位的原子, 此配位 环境可归属为 Cr(N₄O₂)型. 经光照后, 谱带红移至 546 nm 附近, 接近 c-[Cr(CN)₂(H₂O)₄]⁺在 540 nm 处 d-d 跃迁 峰, 但波长仍小于[Cr(H2O)6]3+在 574 nm 的跃迁. 故推断 [Cr(4-ASA)(en)2]Cl 的光化学产物为[Cr(4-ASA)(en)- 同时由普兰克方程 $E = \frac{hv}{\lambda}$,加上适当的换算因子, 得 $E = \frac{1.19 \times 10^6}{\lambda}$, *E* 的单位是 kJ/mol, λ 的单位是 Å^[29]. 据此方程可求得相应各轨道之间的晶体场分裂能 Δ ,见 表 1.

2.2.2 光照条件下配合物溶液摩尔电导和 pH 变化

该光化学反应可以用溶液的摩尔电导和 pH 变化来 监测.图6为1.0×10⁻³ mol·L⁻¹配合物溶液(蒸馏水)在日 光照射下电导随时间的变化图.由图6可知,随着日光的 照射,配合物水溶液的摩尔电导逐渐增加,1h后趋于平 衡,摩尔电导增加幅度约为70 S•cm²•mol⁻¹.为了证明该 摩尔电导的增加是由于乙二胺配体的解离所致,我们做 了以下对照实验:分别配置1.0×10⁻³和2.0×10⁻³ mol• L⁻¹的乙二胺水溶液,在相同条件下测其摩尔电导,测 量值分别为65和122 S•cm²•mol⁻¹,说明配合物在日光 照射下其一个乙二胺配体发生解离.同时溶液的pH 值 也发生了变化,光照前[Cr(4-ASA)(en)₂]⁺溶液 pH 值为 7.38,光照后溶液pH 值增加为8.23,说明乙二胺配体解 离后水解,使得水溶液碱性增强.





Figure 6 Molar conductivity changes of complex exposed to sunlight

2.2.3 EMS 谱监测

为了确定配合物在光照前后物种的变化,我们用质 谱仪对配合物溶液在光照前和光照后进行了监测.图 7 为配合物溶液(1×10⁻³ mol•L⁻¹)在光照前的 EMS 谱,在 m/z 323 处出现最强峰,归属为[Cr(4-ASA)(en)₂]⁺.图 8 为 配合物光照后的 EMS 谱, *m/z* 323 处的峰基本消失, 而在 *m/z* 265 处出现特征峰, 指认为[Cr(4-ASA)(en)]⁺. 进一步 追踪该 *m/z* 265 碎片的母离子峰, 在 *m/z* 301 处出现最强 峰, 如图 9 所示, 可归属为[Cr(4-ASA)(en)(H₂O)₂]⁺, 说明 [Cr(4-ASA)(en)]⁺来源于[Cr(4-ASA)(en)(H₂O)₂]⁺的裂解, 与金属配位的两个水分子在 EMS 谱中易失去.



图 7 配合物[Cr(4-ASA)(en)₂]Cl 溶液 EMS 谱 Figure 7 EMS mass spectra of [Cr(4-ASA)(en)₂]Cl in aqueous solution



图 8 配合物[Cr(4-ASA)(en)₂]Cl 光照产物的 EMS 谱 Figure 8 EMS mass spectra of irradiated [Cr(4-ASA)(en)₂]Cl in aqueous solution





表1	配合物跃迁谱归属
----	----------

	Table 1	The assignment of the d-d absorption of the complex			
Complex	${}^{4}A_{2g} - {}^{4}T_{2g}/nm$	$\Delta/(kJ \cdot mol^{-1})$	Final product	${}^{4}A_{2g} - {}^{4}E_{g}/nm$	$\Delta/(kJ \cdot mol^{-1})$
$\left[\operatorname{Cr}(4-\operatorname{ASA})(\operatorname{en})_2\right]^+$	510 nm	233.5	$\left[\text{Cr(4-ASA)(en)(H_2O)_2}\right]^+$	550 nm	216.7

由上述几点讨论, 推测铬配合物[Cr(4-ASA)(en)₂]Cl 在光照下发生了光化学取代反应, 配合物由[CrL(en)₂] 型转变为[CrL(en)(H₂O)₂]型化合物, 即一个 en 配体发生 离解, 由两个水分子取代.



2.3 配合物及其光化学产物与 EDTA 反应动力学

 Cr^{3+} 为 d³ 电子构型, 八面体结构配合物表现为反应 动力学惰性.向配合物或光化学产物中加入过量的 EDTA 时($K_{Cr-EDTA}$ =10²³),由于EDTA 与4-氨基水杨酸竞 争 Cr^{3+} ,4-氨基水杨酸与 Cr^{3+} 逐渐解离,荧光光谱和吸收 光谱规律变化.图 10 曲线 a→d 是 pH 7.4,0.01 mol•L⁻¹ Tris-HCl,37 ℃条件下,光照产物[Cr(4-ASA)(en)(H₂O)₂]⁺ 与 EDTA 反应时荧光强度随时间的变化曲线.由图 10 可知,荧光强度逐渐增强,约 100 h 时荧光强度的增加 趋缓.说明配体 4-ASA 逐渐从铬(III)离子上解离下来. 按二级反应标准方程拟合荧光强度随时间的变化,可得 反应速率常数约为(10±0.5)×10⁻³ mol⁻¹•L•s⁻¹.图 11 曲 线 1→5 为相同条件下光照产物[Cr(4-ASA)(en)(H₂O)₂]⁺与 EDTA 反应时的紫外光谱,同样可见配体 4-ASA 逐渐从 铬(III)离子上解离下来.二级反应速率常数拟合为 (8.2±0.1)×10⁻³ mol⁻¹•L•s⁻¹.

相同条件下,未光照配合物[Cr(4-ASA)(en)₂]Cl 与 EDTA 的反应同样可以用荧光和紫外光谱来监测,反应 速率常数分别拟合为(3.3±0.5)×10⁻³ 和(2.6±0.1)×10⁻³ mol⁻¹•L•s⁻¹(图略). 很明显,光照后的配合物与EDTA的 反应要比未光照的要快. 这是源于与金属配位的水分





a→d: 4, 11, 24, 55 h. 37 °C, pH 7.4, Inset: A plot of $\ln[(a-b)/(b-x)]/(a-b)$ vs. time, $a=0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, b=10a, $x=a(F_0-F_t)/(F_0-F_\infty)$, r=0.992





Figure 11 Absorption spectra at different time for the mixture of $[Cr(4-ASA)(en)(H_2O)_2]^+$ with EDTA

1→5: 0, 20, 50, 75, 100 h, Inset: A plot of $\ln[(a-b)/(b-x)]/(a-b)$ vs. time, $a=0.10 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, b=10a, $x=a(A_0-A_1)/(A_0-A_{\infty})$, r=0.990

子是取代活性的,相对 en 配体来说易被 EDTA 所取代. en 分子被水分子取代后,配合物晶体场稳定化能(CFSE) Δ 由 233.6 kJ•mol⁻¹•L 降到了 216.7 kJ•mol⁻¹•L. 晶体场活 化能 CFAE 会随之降低,所以反应速率相应地加快^[22](对 照实验:经光照和未光照配合物溶液在室温和避光状态 下可长期稳定存在).

2.4 配合物及其光化学产物与 DNA 反应

对配合物及其光照产物与 DNA 的反应进行了研究. 图 12 为在生理条件下配合物[Cr(4-ASA)(en)₂]⁺与 pBR 322DNA 作用的浓度梯度实验.由图 12 可知,未光照配 合物在实验条件下不能切割 pBR 322DNA.相同条件下, CrCl₃及 4-氨基水杨酸均不能切割 pBR 322DNA.



图 12 配合物[Cr(4-ASA)(en)₂]⁺与 pBR 322 DNA 作用的浓度 梯度

Figure 12 Cleavage of pBR 322 DNA in the presence of different concentration of [Cr(4-ASA)(en)₂]Cl

Lane 1: DNA control; Lane $2\rightarrow$ 8: DNA+ $[Cr(4-ASA)(en)_2]^+$ (2, 6, 10, 20, 40, 100, 200 µmol/L), 30 min

图13为照射不同时间的[Cr(4-ASA)(en)₂]⁺样品在生 理条件下与 pBR 322DNA 作用 100 min 的示意图.由图 13可见,经照射过的配合物对 pBR 322DNA 具有切割作 用.随着照射时间的增加,配合物切割能力逐渐增加, 在照射 80 min 后切割能力达到峰值.随着样品照射时间 的继续延长,切割能力逐渐下降.



图 13 照射不同时间的[Cr(4-ASA)(en)₂]⁺溶液与 pBR 322DNA 的作用

Figure 13 Cleavage of pBR 322DNA in the presence of irradiated $[Cr(4-ASA)(en)_2]Cl$

Lane 1: DNA control; Lane $2\rightarrow$ 8: the irradiated time of $[Cr(4-ASA)(en)_2]^+$ (20 µmol·L⁻¹), 20, 40, 60, 80, 100, 120, 200 min

选用配合物照射 80 min 的产物作为对象,在生理条件下研究了光照产物与 pBR 322DNA 作用的时间梯度 实验,如图 14 所示.随着反应时间的增加,DNA 超螺旋 结构(I型)逐渐减少,缺刻(II型)及线性结构(III型)依次 增加.在反应的前 15 min,缺刻及线性结构已出现.在 120 min 后,超螺旋结构基本消失.说明光照产物 [Cr(4-ASA)(en)(H₂O)₂]⁺在较低的浓度下(20 μ mol·L⁻¹)就 能有效地切割 DNA.应用 GENE 凝胶成像分析系统对 图 14 的数据进行分析,按单指数方程进行拟合,拟合结 果如图 15 所示.对超螺旋结构(I型)来说,速率常数拟合 为 1.1 h⁻¹ (R=0.968).



图 14 [Cr(4-ASA)(en)(H₂O)₂]⁺与 pBR 322DNA 作用的时间梯度

Figure 14 Cleavage of pBR322 DNA in the presence of $[Cr(4-ASA)(en)(H_2O)_2]^+$ for different time

Lane 1: DNA control; Lane $2\rightarrow$ 8: DNA+20 µmol•L⁻¹ [Cr(4-ASA)(en)(H₂O)₂]⁺ (15, 25, 45, 65, 85, 100, 120 min), 37 °C



图 15 [Cr(4-ASA)(en)(H₂O)₂]⁺切割 DNA 速率常数的拟合 Figure 15 Curves fit for DNA cleavage by [Cr(4-ASA)(en)-(H₂O)₂]⁺

为了进一步研究该光照产物对 DNA 的断裂机理, 根据实验条件在上述反应体系中分别加入二甲亚砜 (DMSO)、甲醇或甘油(Glycerol)等羟基自由基捕捉剂. 与未加入捕捉剂情况下光照产物对 DNA 的断裂能力进 行了对比,实验数据见表 2. 由表 2 可以看出,加入自由 基清除剂不能阻止反应的进行,与对照相比,断裂程度 基本一致.所以由自由基引起的氧化性切割可能性小, 可初步排除自由基切割机理.

表 2 自由基捕捉剂对光照产物[Cr(4-ASA)(en)(H₂O)₂]⁺切割 DNA 的影响 ^{*a*}

Table 2 Effect of additives on the extent of pBR 322DNAcleavage by $[Cr(4-ASA)(en)(H_2O)_2]^+$

Condition	Yield/%				
Condition	Form I	Form II	Form III		
Control	81	19	0		
$[Cr(4-ASA)(en)(H_2O)_2]^+$	50.6	26.5	22.9		
+DMSO (0.4 mol)	44.2	29.3	26.5		
+MeOH (2.5 mol)	50.8	25.7	23.5		
+glycerol (0.4 mol)	49.4	24.7	25.9		

^{*a*} 20 μ mol•L⁻¹ [Cr(4-ASA)(en)(H₂O)₂]⁺, 0.01 μ g/ μ L pBR 322 DNA, 60 min.

Lay 等^[13]总结了不同价态的铬配合物对 DNA 的切割 机制. 指出 DNA 在 Cr(VI)+还原剂+O₂或 CrCl₃+H₂O₂ 这两种体系中会发生氧化性损伤,而 Cr(VI)或铬(III)本身 不会损伤 DNA. 在铬的多个氧化态中,只有+3 价和+6 价化合物稳定.本文光化学实验中,光照产物的吸收光 谱显示不存在+6 价铬([CrO₄]²⁻, $\varepsilon_{372} \approx 4.7 \times 10^3$ mol⁻¹• L•cm⁻¹, pH 7.4^[30]),说明配合物在光照前后化合价始终 是+3 价.可以排除氧化性断裂 DNA 的机理. 相关文献 表明, 钴配合物[(en)₂Co(OH)(OH₂)]²⁺, [(cyclen)-Co(OH)-(OH₂)]²⁺和[(tamen)Co(OH)(OH₂)]²⁺能有效促进磷酸二 脂键的水解^[31-33]. 假一级速率常数(1×10⁻³ mol•L⁻¹)分 别为 3.6×10⁻³, 3.6×10⁻²和 0.18 h⁻¹.本文所用到的铬 配合物的光照产物[Cr(4-ASA)(en)(H₂O)₂]⁺与上述三个 钴配合物具有相似的结构,有可能是水解切割机理,但 更准确的机理有待进一步研究.

3 结论

利用多种光谱手段研究了前期所合成的铬配合物 [Cr(III)(4-ASA)(en)₂]Cl在不同条件下的稳定性及光化学 活性.配合物在中性溶液中和室温条件下稳定存在.在 日光照射下会发生典型的光化学反应,含氮的乙二胺配 体会因质子化而解离,空缺位点由溶剂水分子代替.意 外发现该取代产物能在低浓度下快速切割 DNA,切割 机理尚不明晰.配合物的这一性质,有可能在利用光动 力疗法(PDT)治疗癌症等疾病方面得到应用.

References

- Wang, H.; Kruszewski, A.; Brautigan, D. L. *Biochemistry* 2005, 44, 8167.
- 2 Anderson, R. A. Clin. Physiol. Biochem. 1986, 4, 31.
- 3 Mertz, W. J. Nutr. 1993, 123, 626.
- 4 Anderson, R. A. *Trace Elements in Human and Animal Nutrition*, Academic Press, Orlando, **1987**, *1*, 225.
- 5 Glinsmann, W. H.; Mertz, W. Metabolism 1966, 15, 510.
- Mertz, W.; Schwarz, K. Arch. Biochem. Biophys. 1955, 58, 504.
- 7 Davis, C. M.; Vincent, J. B. J. Biol. Inorg. Chem. 1997, 2, 675.
- 8 Anderson, R. A. J. Adv. Med. 1995, 8, 37.
- 9 Manygoats, K. R.; Yazzie, M.; Stearns, D. M. J. Biol. Inorg. Chem. 2002, 7, 791.
- Stearns, D. M.; Silveira, S. M.; Wolf, K. K. Mutat. Res. 2002, 513, 35.
- 11 Mertz, W. Science 1981, 213, 1332.
- Sun, Y. J.; Ramirez, J.; Vincent, J. B. J. Biol. Inorg. Chem. 2000, 5, 129.
- 13 Levina, A.; Codd, R.; Dillon, C. T.; Lay, P. A. Prog. Inorg. Chem. 2003, 51, 145.
- 14 Stearns, D. M. Biofactors 2000, 11, 149.
- Mertz, W.; Toepfer, E. W.; Roginski, E. E.; Polansky, M. M. Fed. Proc. 1974, 33, 2275.
- 16 Vincent, J. B. Acc. Chem. Res. 2000, 33, 503.
- Dinakarpandian, D.; Morrissette, V.; Chaudhary, S.; Amini,
 K.; Bennett, B.; Van Horn, J. D. *BMC Chem. Biol.* 2004, 4,
 2.
- 18 Qian, Y.; Jiang, B. H.; Flynn, D. C.; Leonard, S. S.; Wang, S.; Zhang, Z.; Ye, J.; Chen, F.; Wang, L.; Shi, X. *Mol. Cell. Biochem.* 2001, 222, 199.
- Mulyani, I.; Levina, A.; Lay, P. A. Angew Chem., Int. Ed. 2004, 43, 4504.

20 Liu, B.; Yang, B. S. Chin. J. Chem. 2007, 25, 1802 (in Chinese).

(刘斌,杨斌盛,中国化学,2007,25,1802.)

- Yang, A. G.; Mao, J. F.; Yao, L. B. Laboratory Methods in Biochemistry and Molecular Biology, Higher Education Press, Beijing, 2001, p. 308 (in Chinese).
 (杨安钢, 毛积芳, 药立波, 生物化学与分子生物学实验 技术, 高等教育出版社, 北京, 2001, p. 308.)
- 22 Lever, A. B. P. *Inorganic Electronic Spectroscopy*, 2nd ed., Elsevier, Amsterdam, Oxford, New York, Tokyo, **1984**.
- 23 Kirk, A. D. Chem. Rev. 1999, 99, 1607.
- 24 Kirk, A. D.; Moss, K. C.; Valentin, J. G. Can. J. Chem. 1971, 49(9), 1524.
- 25 Rosebush, W. J.; Kirk, A. D. Can. J. Chem. 1976, 54(14), 2335.
- 26 Wong, C. F. C.; Kirk, A. D. Can. J. Chem. 1974, 52(19), 3384.
- Qian, D. J.; Wu, Y. F.; Chen, Z. Chin. J. Inorg. Chem. 1993, 9(3), 249 (in Chinese).
- (钱东金, 吴一凡, 陈忠, 无机化学学报, 1993, 9(3), 249.)
 Xiang, S. F.; Yao, G. Q. *Middle Inorganic Chemistry*, Beijing University Press, Beijing, 2005 (in Chinese).
 (项斯芬,姚光庆,中级无机化学,北京大学出版社,北京, 2005.)
- 29 Basolo, F.; Johnson, R. C. Coordination Chemistry, Translated by: Song, Y. Z.; Wang, G. L., Beijing University Press, Beijing, 1982 (in Chinese). (弗瑞德•巴索罗, 罗纳德•C. 蒋逊, 配位化学, 宋银柱, 王耕霖等译, 北京大学出版社, 北京, 1982.)
- 30 Brasch, N. E.; Buckingham, D. A.; Evans, A. B.; Clark, C. R. J. Am. Chem. Soc. 1996, 118, 7969.
- 31 Dixon, N. E.; Geue, R. J.; Lambert, J. N.; Moghaddas, S.; Pearce, D. A.; Sargeson, A. M. Chem. Commun. 1996, 1287.
- 32 Norman, P. R.; Cornelius, R. D. J. Am. Chem. Soc. 1982, 104, 2356.
- 33 Kin, J. H.; Chin, J. J. Am. Chem. Soc. 1992, 114, 9792.

(A0712121 LI, L. T.; ZHENG, G. C.)