

(2)227-230

第2期
1997年6月无机化学学报
JOURNAL OF INORGANIC CHEMISTRYVol. 13, No. 2
June, 1997

研究简报

胸腺嘧啶核苷与过渡金属配位稳定常数的测定

王宝俊*

(山西大学化学系, 太原 030006)

杨 频

(山西大学分子科学研究所, 太原 030006)

Q525.02

0614

本文采用 pH 滴定法准确测定了胸腺嘧啶核苷与几种过渡金属离子的配位数和逐级稳定常数, 并对其配位作用规律进行了讨论。

关键词: 胸腺嘧啶核苷 过渡金属离子 逐级稳定常数 配位数

核苷是核酸的基本组成部分, 是核酸特异性的根本原因。近期的研究表明, 无机离子特别是金属离子, 数量虽少却在生物过程中起着重要作用。金属离子在核酸中所起的重要作用几乎是可以肯定的。并且主要体现在与核苷的作用上而具有重要的生物学意义^[1], 是核酸生物无机化学的基础。核苷与过渡金属在水溶液体系中的配位作用一般较弱, 这给配位作用的研究带来一定的困难。关于金属离子与核苷的作用, ¹R、¹H NMR 和 ¹³C NMR 多用于作结构信息的测定^[2,3,4]。定量的结果如配位数、稳定常数等仍由经典方法给出, 由于实验手段的精细化和计算机的广泛应用, 测定结果时有报道^[5]。由于我们在研究金属离子对 DNA 作用时首先需要了解核苷与金属离子的配位情况, 所以在确定了胸腺嘧啶核苷与几种过渡金属配位的结构特性的基础上^[6], 采用 pH 滴定法测定了它们尚未报道的配位数和逐级配位稳定常数。

1 实 验

pH 值用 PHS-2D 型精密酸度计测定, 同时还用电磁搅拌和微量进样器, 胸腺嘧啶核苷为 Fluka 进口分装, 生化试剂。其他试剂为分析纯, 各种溶液用去离子水配制, 并按标准方法标定; 实验温度由超级恒温槽控制为 20 ± 0.2 °C。

在 50 ml 容量瓶中移入 20 ml 0.1030 mol/L 胸腺嘧啶核苷水溶液和 2 ml 0.02835 mol/L HNO₃ 溶液, 并加入 20 ml 2.5 mol/L NaNO₃ 溶液控制离子强度为 $I = 1.0$, 去离子水定容。用移液管取上述混合液 25 ml 于干燥的小烧杯中, 插入 pH 电极, 用 50 μ l 微量进样器逐次定量加入 NaOH 溶液 (0.1941 mol/L), 测定 pH 值。每次测定时要用电磁搅拌 3 min, 确保体系达到平衡并在恒温下进行测定。把上述实验中的 2 ml HNO₃ 溶液分别换成 Pd(NO₃)₂、Co(NO₃)₂、

收稿日期: 1996-08-28。 收修改稿日期: 1997-01-10。

国家自然科学基金资助项目。

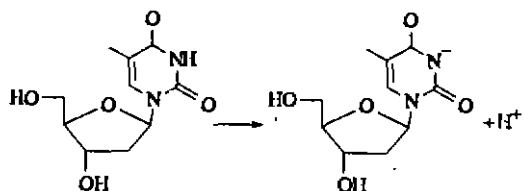
* 通讯联系人。

第一作者: 王宝俊, 男, 30 岁, 讲师, 硕士; 研究方向: 生物大分子的离子探针。

$\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$ 的以同浓度 HNO_3 溶液为溶剂的溶液(即用 0.02835 mol/L 的 HNO_3 为溶剂配制金属盐溶液), 浓度分别为 6.8×10^{-4} 、 1.90×10^{-3} 、 $1.91 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$, 同上法测定逐次加入 NaOH 时的 pH 值。特别要注意本实验前后两次滴定必须保持实验条件严格平行, 应在尽量接近的时间内一次完成。体系的滴定曲线($\text{pH}-V_{\text{NaOH}}$ 图)在形状上类似但具体数值不同, 图1给出了一个例子。

2 数据处理

前文报道的 ^1H NMR、 ^{13}C NMR、IR 和 TLC 实验结果表明^[6], 胸腺嘧啶核苷中 N(3) 上的氢在一定 pH 范围内按以下方式电离:

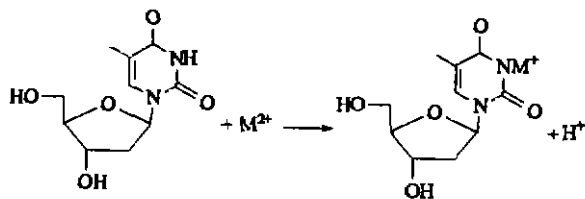


简写为 $\text{HL} \longrightarrow \text{H}^+ + \text{L}^-$ (1)

按文献方法^[7]可测得 20°C 下这一电离平衡的平衡常数为:

$$K_a = \frac{[\text{H}^+][\text{L}^-]}{[\text{HL}]} = 4.26 \times 10^{-10} \quad (2)$$

$\text{p}K_a$ 测定的标准偏差为 0.223, 变异系数^{*}为 2.4%。胸腺嘧啶核苷与金属离子发生的一级配位反应为:



简写为 $\text{HL} + \text{M}^{2+} \longrightarrow \text{ML}^- + \text{H}^+$ (3)

配位反应有 H^+ 放出, 因此胸腺嘧啶核苷可看作一个弱酸配体而用标准碱滴定来研究这

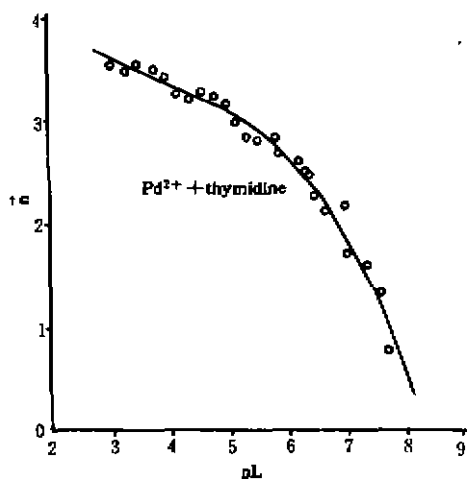


图1 滴定曲线

Fig. 1 Titration curve

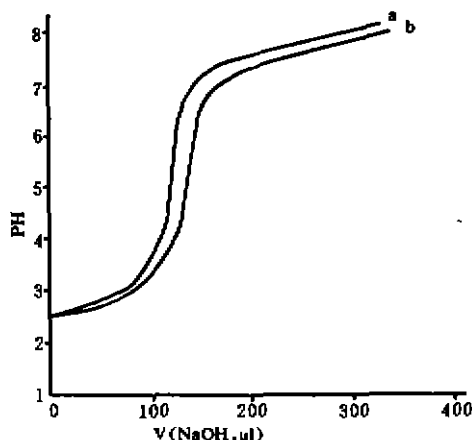


图2 生成曲线

Fig. 2 Formation curve

a. thymidine b. thymidine + Co^{2+}

* 变异系数一般定义为: 样本标准偏差/样本平均值

个体系。图1中曲线b在曲线a的下方,表明配位反应确如(3)式所示,反应中 H^+ 的放出使体系要达到相同的pH值需耗较多的NaOH。参照pH滴定法测定配位反应的标准处理方法^[8]从图1中a、b线在某一pH值下的横距可求出该pH值下已与金属离子配位的胸腺嘧啶核苷的浓度进而求得生成函数 $\bar{n}$ 。由于实验中胸腺嘧啶核苷的总浓度 T_L 远大于金属离子的总浓度 T_M ,利用(2)式可求得生成曲线 $(\bar{n}-pL)$,图2是一个例子。从图中曲线的变化趋向可求出胸腺嘧啶核苷与金属离子的配位数,见表1。把各种形态的配离子和金属离子(M 、 ML 、 ML_2 、 ML_3 、 ML_4)的浓度和逐级稳定常数代入 $\bar{n}$,可知从生成曲线上 $\bar{n}=\frac{1}{2}$ 、 $\frac{3}{2}$ 、 $\frac{5}{2}$ 和 $\frac{7}{2}$ 这些半整数处对应的 pL ,即为 $\log k_1 \sim \log k_4$ 的近似值^[9]。把这些近似值代入 $\bar{n}$ 中求得逼近值并反复迭代至数据收敛,利用计算机可实现这一过程,结果见表1。

表1 胸腺嘧啶核苷与过渡金属离子的配位数和逐级稳定常数

Table 1 Coordination Numbers and the Stepwise Stability Constants of Thymidine-Transition Metal Complexes

Coordination system	Coordination numbers	stepwise stability constants			
		$\log k_1$	$\log k_2$	$\log k_3$	$\log k_4$
Pd(II)-Thymidine	4	8.15	7.67	6.37	3.56
Co(II)-Thymidine	4	7.85	7.19	3.62	3.38
Ni(II)-Thymidine	4	7.40	6.88	3.61	3.42

3 讨论

3.1 按照前文的工作^[6]胸腺嘧啶核苷与过渡金属的配位点是N(3),2,4位羰基不参与或很少参与配位,因而胸腺嘧啶核苷的空间结构对金属离子的一级配位有一定阻碍但不主要因素。一级配位稳定常数的大小主要决定于金属离子的配位化学特性,从表1中可见胸腺嘧啶核苷与金属离子的配位稳定性次序为 $Pd > Co > Ni$,而金属离子的半径分别为80、72、69 pm^[8],较大的金属离子并没有表现出受到了较大的空间阻碍。

3.2 离子半径较大的金属离子与胸腺嘧啶核苷发生一级配位后将在空间上为第二个胸腺嘧啶核苷留有较大的余地,即对半径较大的离子来说,第二胸腺嘧啶核苷在避开第一个胸腺嘧啶核苷造成的空间位阻而与中心离子结合将较为容易。这一点与离子晶体中由于正负离子半径比不同而形成不同密堆积结构相似。在第三个胸腺嘧啶核苷发生配位时,上述由于中心离子半径大小不同造成的已配位的胸腺嘧啶核苷对即将配位的胸腺嘧啶核苷空间阻碍的不同将更为明显。所以半径小的金属离子在与胸腺嘧啶核苷配位时 k_2 、 k_3 减小幅度较大。当第四个胸腺嘧啶核苷配发生配位时,由于已有三个体积较大的胸腺嘧啶核苷在金属离子周围,中心离子的差异表现得不明显了,故四级稳定常数反而接近了。

3.3 对于靶分子为DNA的抗癌配合物药物,其抗癌特性的一个重要方面就是研究它与DNA的作用强弱,这方面的详细研究常用核苷与药物作用来模拟^[10]。本文讨论的离子与抗癌药物顺铂在热力学和动力学特点上并无巨大差异,但抗癌特性却相去甚远。可见其抗癌活性不仅取决于药物与DNA的结合是否发生以及稳定性如何,还与它们在生物体内的代谢过程及与DNA的结合方式有关。这给我们一个重要提示,在对抗癌药物的进行讨论时,药物与DNA是否结合以及结合能力大小决不是唯一要素,药物在生物体内的代谢方式以及富集部

位等同样是重要方面。

参 考 文 献

- [1] 郭德威, 生物无机化学概要, 天津: 天津科技出版社, 1980, 82.
- [2] Tu, A. T. et al *Biochemistry*, 1968, 7, 4367.
- [3] Eichhom, G. L. et al *Biochemistry*, 1966, 5, 245.
- [4] Jones, A. J. et al *J. A. C. S.*, 1980, 92, 4078.
- [5] 龚玉秋, 科学通报, 1991, 16, 1231.
- [6] 杨 频、王宝俊, 山西大学学报(自然科学版), 1994, 2, 183.
- [7] 徐志固, 现代配位化学, 北京: 化学工业出版社, 1987, 197.
- [8] 张祥麟, 络合物化学, 冶金工业出版社, 1979, 156.
- [9] 戴安邦等, 元素周期表, 上海: 上海科学技术出版社, 1989, 1.
- [10] 唐雯霞等, 高等学校化学学报, 1991, 1, 424.

DETERMINATION OF STABILITY CONSTANTS OF THYMIDINE AND TRANSITION METAL COMPLEXES

Wang Baojun

(Chemistry Department, Shanxi University, Taiyuan 030006)

Yang Ping

(Molecular Science Institute, Shanxi University, Taiyuan 030006)

The coordination numbers and the stepwise stability constants of thymidine-transition metal (Pd^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+}) complexes, were determined by using pH-titration method at $(20.0 \pm 0.2)^\circ\text{C}$. The coordination rules, such as the variation in the stepwise stability constants, were discussed.

Keywords: thymidine transition metal ion stepwise stability constant coordination