

三(2-羟基-苯甲醛)乙醇胺三足配体汞(Hg)配合物的合成、结构及其与 DNA 相互作用的研究

陈凤娟^{*1} 朱永泽² 朱锐伦² 刘国旗² 马 骞² 李 洁²

彭万通² 陈国举² 曾正志¹

(¹ 兰州大学化学化工学院, 兰州 730000)

(² 兰州金川新材料科技股份有限公司, 兰州 730101)

摘要: 合成了基于邻羟基苯甲醛的三足配体 Tris[(*p*-hydroxybenzaldehyde)ethyl]amine (L), 得到了该配体与汞的配合物, 应用单晶 X 射线衍射技术测定了配体及其汞配合物的结构; 应用紫外吸收光谱、荧光光谱和粘度测定研究该配合物与小牛胸腺 DNA 的作用。结果表明, 该配合物与小牛胸腺 DNA 以插入的方式相结合。

关键词: 三足配体汞配合物; 小牛胸腺 DNA; 插入作用

中图分类号: O614.24*3

文献标识码: A

文章编号: 1001-4861(2013)12-2561-07

DOI: 10.3969/j.issn.1001-4861.2013.00.382

Synthesis, DNA-Bonding Properties Study of Mercury(II) Complex with Tris[(*p*-hydroxybenzaldehyde) ethyl]amine

CHEN Feng-Juan^{*1} ZHU Yong-Ze² ZHU Rui-Lun² LIU Guo-Qi² MA Qian² LI Jie²

PENG Wan-Tong² CHEN Guo-Ju² ZENG Zheng-Zhi¹

(¹Key Laboratory of Nonferrous Metals Chemistry and Resources Utilization of Gansu Province, College of Chemistry and Chemical Engineering, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China)

(²Lanzhou Jinchuan Science and Technology Park Co. Ltd, Lanzhou 730000, China)

Abstract: Mercury (II) complex with tris [(*p*-hydroxybenzaldehyde)ethyl]amine has been synthesized and characterized. The crystal and molecular structures of the complex was determined by singlecrystal X-ray diffraction. The interaction of complex with calf thymus DNA was investigated by UV-Vis, fluorescence spectrum and viscosity measurements. Results suggest that complex can bind to DNA via intercalation mode. CCDC: 952313, L; 843072, complex.

Key words: tripodal ligand mercury(II) complex; calf thymus DNA; intercalation mode

0 前 言

汞(Hg)是一种剧毒、有腐蚀性并且对环境有害的元素。一些汞盐(如, HgCl₂)能够充分挥发并以气体形式存在^[1]。汞(Hg)可以通过空气、水、食品、疫苗、化

妆品等多种途径传递, 并且能够在环境中持续存在、在食物链中累积, 对于环境以及生物体都产生了严重的危害, 这引起了人们强烈的关注^[2]。

科研工作者对具有活泼性质的分子自组装受体做了深入的研究, 发现其具有多种潜在的应用价值,

收稿日期: 2013-12-16。收修改稿日期: 2013-06-19。

“兰州大学中央高校基本科研业务费专项资金”(No.lzujbky-2013-194)资助项目。

*通讯联系人。E-mail: chenfj@lzu.edu.cn

例如分子及药物的传递^[3], 分子催化^[4]等。三足配体由于具有特殊的半刚性结构, 在与金属配位时能够表现出特有的选择性配位能力, 近些年来已成为热门的离子选择性受体。

氯化汞(HgCl_2)在溶液中以分子形式存在时, 很容易与氮(N)、氧(O)等配位原子发生配位^[5]。我们设计合成了一些含有 N、O 等配位原子的三足配体, 作为汞离子的选择性受体。氯化汞(HgCl_2)能够很容易的与其发生反应生成汞(II)的配合物, 这些汞(II)的配合物非常稳定, 能够很好的遏制氯化汞等进入到生物循环系统之中。此外, 本研究利用紫外-可见光谱滴定、稳态荧光光谱滴定、圆二色谱和粘度实验研究了三足配体汞配合物与小牛胸腺 DNA 的相互作用。

1 实验

1.1 测试仪器及试剂

化合物熔点用北京 XT4-100x 显微熔点仪测定; C, H, N 分析采用 Elemental Vario-EL 型元素分析仪; 红外光谱 ($4\,000\sim 400\text{ cm}^{-1}$) 用 Thermo Mattson FTIR 光谱仪(KBr 压片法)测定; ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 光谱测试用 Varian200 核磁共振仪测定(CDCl_3 为溶剂, Me_4Si 为内标); 质谱测试用 HP-5988A spectrometer (EI at 70 eV); 晶体测试用 Bruke Smart APEX II CCD 面探测器; 粘度用乌氏粘度计在恒温槽中测定。

Tris-HCl 缓冲溶液: 该缓冲溶液为水溶液, 其中三羟甲基氨基甲烷(tris)的浓度为 $10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, NaCl 的浓度为 $50\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, 加盐酸调节 pH 到 7.2。小牛

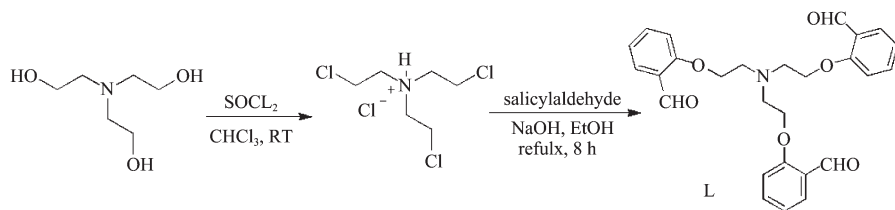
胸腺 DNA(CT-DNA)购自 Sigma 公司, 用 Tris-HCl 缓冲溶液配置的样品保存在冰箱, 一周内用完。该实验所用到的所有试剂均为分析纯, 实验用水均为二次蒸馏水。三(2-氯乙基)胺盐酸盐根据文献^[6]合成。

1.2 配体的合成

取 3.0 mmol 水杨醛于 100 mL 的圆底烧瓶中, 加入 50 mL 的无水乙醇及 4.0 mmol 的 NaOH 固体, 常温搅拌 0.5 h 。然后加入 1.0 mmol 的三(2-氯乙基)胺盐酸盐, 加热使其回流 6 h , 冷却到室温, 然后倾入到 150 mL 的冰水中, 出现大量沉淀, 过滤, 并用水及冷的无水乙醇洗涤, 干燥后得白色固体粉末即为配体 L, 二氯甲烷中重结晶可得无色块状晶体。产率: 67% 。 ^1H NMR (CDCl_3) $\delta(\text{ppm})$: $3.25(\text{t}, 6, J=7\text{ Hz}, \text{CH}_2\text{N})$, $4.20(\text{t}, 6, J=7\text{ Hz}, \text{CH}_2\text{O})$ 。MS: $m/z=462.2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

1.3 配合物的合成

称取配体 L 0.092 g (0.2 mmol)于 25 mL 的圆底烧瓶中, 加入 10 mL 的甲醇, 加热使其溶解, 待其溶解后, 慢慢滴加 5 mL (0.2 mmol)的 HgCl_2 甲醇溶液到圆底烧瓶中, 继续反应 3.0 h 后, 冷却, 过滤, 滤液用自然挥发法培养单晶, 1 周后得无色块状晶体。产率: $\sim 72\%$ 。元素分析 ($\text{C}_{33}\text{H}_{45}\text{Cl}_2\text{HgNO}_9$) (%): C, 45.62 ; H, 5.15 ; N, 1.49 。理论值 (%): C, 45.50 ; H, 5.21 ; N, 1.61 。FTIR (KBr pellet) (cm^{-1}): $3\,445(\text{br})$, $2\,935(\text{s})$, $2\,829(\text{m})$, $2\,360(\text{m})$, $1\,601(\text{s})$, $1\,491(\text{s})$, $1\,453(\text{s})$, $1\,368(\text{s})$, $1\,285(\text{m})$, $1\,234(\text{vs})$, $1\,090(\text{vs})$, $1\,049(\text{vs})$, $978(\text{s})$, $909(\text{s})$, $757(\text{s})$, $676(\text{w})$, $609(\text{w})$, $509(\text{w})$ 。



Scheme 1 Synthetic route of ligand L

1.4 测试方法

1.4.1 紫外吸收光谱

向样品池及参比池中分别加入 2.0 mL 的 Tris-HCl 缓冲溶液, 扫描基线, 再向样品池中加入 $20\text{ }\mu\text{L}$ 的 $1.0\times 10^{-3}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的配合物溶液, 扫描其紫外吸收光谱; 然后向样品池及参比池中分别加入相同体积的 CT-DNA 储备液, 测定配合物的紫外吸收光谱随

CT-DNA 加入量的变化。配合物与 CT-DNA 的结合常数可通过公式 1 计算^[8]:

$$c_{\text{DNA}}/(\varepsilon_a - \varepsilon_f) = c_{\text{DNA}}/(\varepsilon_b - \varepsilon_f) + 1/[K_b(\varepsilon_b - \varepsilon_f)] \quad (1)$$

其中, c_{DNA} 表示样品池中 CT-DNA 的浓度, ε_a , ε_b , ε_f 分别表示吸光系数 (A_{obs}/c_M), 未与 DNA 结合的配合物和已与 DNA 结合的配合物的吸光系数。结合常数 K_b 就是以 $c_{\text{DNA}}/(\varepsilon_a - \varepsilon_f)$ 对 c_{DNA} 作图所得的斜率与

截距的比值。

1.4.2 荧光光谱

向荧光比色皿中加入 2.0 mL 的 Tris-HCl 缓冲溶液,再加入 20 μL 的 $1.0\times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的配合物溶液,混合均匀后扫描其荧光发射光谱;然后再逐渐加入 CT-DNA 储备液,测定配合物的荧光发射光谱随 CT-DNA 的加入量的变化。配合物与 CT-DNA 的结合常数可通过公式 2 计算^[9]:

$$c_b = c_t[(F-F_0)/(F_{\max}-F_0)] \quad (2)$$

其中, c_t 表示配合物的总浓度, F 表示加入 DNA 后的荧光强度, F_0 、 $F_{\max}$ 分别表示配合物在未加入 DNA 时的荧光强度和与 DNA 反应后的最大荧光强度。

1.4.3 粘 度

溶液粘度用乌式粘度计在 $25(\pm 0.1)^\circ\text{C}$ 的恒温槽里测量。首先向粘度计中加入 10 mL 的 Tris-HCl 缓冲溶液,测定溶液流过毛细管所用的时间 $t_0(\text{s})$;然后加入 100 μL $1.0\times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 DNA 溶液,使粘度计中 DNA 的浓度为 $1.00\times 10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$,再记录此溶液通过毛细管所用的时间 $t_b(\text{s})$;之后向溶液中逐渐加入被测化合物溶液 (浓度是 $1.00\times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$),每次 10 μL ,同样测定混合溶液流过毛细管所用的时

间 $t(\text{s})$ 。溶液的粘度值与溶液流过粘度计中的毛细管所花费的时间成正比,因此溶液粘度的比值 $(\eta/\eta_0)^{1/3}$ 等于耗费时间的比值 $[(t-t_0)/(t_b-t_0)]^{1/3}$ 。以 $(\eta/\eta_0)^{1/3}$ 对 $1/R_t$ 作图可观察被测化合物对 DNA 溶液粘度的影响(R_t 是 DNA 与化合物物质的量浓度的比值: $c_{\text{DNA}}/c_{\text{被测化合物}}$), η_0 和 η 分别是单独的 DNA 溶液和含有不同浓度化合物溶液的粘度^[10]。

1.4.4 配体及配合物的晶体结构测试

将合适大小的配体 L 的晶体 (0.25 mm $\times$ 0.32 mm $\times$ 0.31 mm)及配合物的晶体(0.37 mm $\times$ 0.34 mm $\times$ 0.28 mm)置于 Rigaku RAXIS-RAPID 面探测仪上,于 296 K 下用经石墨单色器单色化的 Mo $K\alpha$ ($\lambda=0.071\ 073\ \text{nm}$) 辐射作为衍射光源进行 X 射线单晶结构测试。数据用 multi-scan 和 sadabs 软件校正后,以可观测的独立衍射点(7150)进行结构计算。用 SHELXTL-97 软件包进行结构解析,初结构用直接法解出,非氢原子坐标是在以后的数轮差值 Fourier 合成中陆续确定的^[11]。基于 F^2 对全部非氢原子坐标及其各向异性热参数进行全矩阵最小二乘法修正,所有氢原子均为理论加氢。配体 L 及配合物的晶体学数据及结构精修参数分别列于表 1 中。

CCDC: 952313, L; 843072, complex.

表 1 配体及配合物的晶体学数据及结构精修参数
Table 1 Crystallographic data for ligand and complex

Parameters	L	Complex
Empirical formula	$\text{C}_{27}\text{H}_{27}\text{NO}_6$	$\text{C}_{33}\text{H}_{45}\text{Cl}_2\text{HgNO}_9$
Formula weight	461.50	871.19
Temperature / K	296(2)	296(2)
Wavelength / nm	0.071 073	0.071 073
Crystal system	Monoclinic	Triclinic
Space group	$C2/c$	$P\bar{1}$
Unit cell dimensions	$a=1.3283(2)\ \text{nm}$ $b=1.948\ 6(3)\ \text{nm}$, $\beta=102.938(2)^\circ$ $c=1.863\ 1(3)\ \text{nm}$	$a=0.981\ 92(11)\ \text{nm}$, $\alpha=85.529\ 0(10)^\circ$ $b=1.299\ 86(15)\ \text{nm}$, $\beta=76.095\ 0(10)^\circ$ $c=1.578\ 15(18)\ \text{nm}$, $\gamma=90.00(10)^\circ$
Volume / nm^3	4.699	1.849
$D_c / (\text{g}\cdot\text{cm}^{-3})$	1.304	1.564
Z	8	2
$F(000)$	1 952	872
Crystal size / mm	0.35 $\times$ 0.32 $\times$ 0.30	0.32 $\times$ 0.31 $\times$ 0.29
Crystal colour	Colorless	Colorless
Theta range for data collection	$2.37^\circ\sim 22.64^\circ$	$2.25^\circ\sim 22.79^\circ$
Absorption coefficient / mm^{-1}	0.092	4.356
Max and min transmission	0.972 9 and 0.968 4	0.3648 and 0.3362
Refinement method	Full-matrix least-squares on F^2	Full-matrix least-squares on F^2

Continued Table 1

Reflection collected / unique	17 712/4 616 ($R_{\text{int}}=0.0382$)	14 182/7 150 ($R_{\text{int}}=0.0255$)
Data/restraints/parameters	4616/0/308	7 150/0/421
GOF on F^2	1.028	1.005
Final R	$R_1=0.039\ 2$, $wR_2=0.090\ 0$	$R_1=0.030\ 5$, $wR_2=0.061\ 9$
R indices (all data)	$R_1=0.065\ 2$, $wR_2=0.103\ 3$	$R_1=0.044\ 2$, $wR_2=0.066\ 5$
Largest diff. peak and hole/($e\cdot\text{nm}^{-3}$)	152 and -123	801 and -530

2 结果与讨论

2.1 配体 L 及配合物的晶体结构分析

X-射线单晶衍射分析表明配体 L 是以单斜晶系、 $C2/c$ 空间群结晶, 其 3 条侧链存在非晶体学的伪 C_3 对称性(如图 1 所示)。配体 L 的主要的键长及键角列于表 2 中。以氮原子(N1)为中心 3 个键的键长和键角分别为 0.145 1 (2) nm, 0.1459 2 (19) nm,

0.145 7(2) nm, 115.47(13) $^\circ$, 114.41(13) $^\circ$, 113.57(13) $^\circ$ 。这些键长和键角的大小与先前所报道的其它三足配体相一致^[12]。

X-射线单晶衍射分析表明配合物以三斜晶系、 $P\bar{1}$ 空间群结晶, 其晶体结构如图 2 所示。从图中我们可以看出, 配体 L 在与氯化汞(HgCl_2)反应过程中, 其支链上的醛基与溶剂甲醇生成了缩醛^[13]。

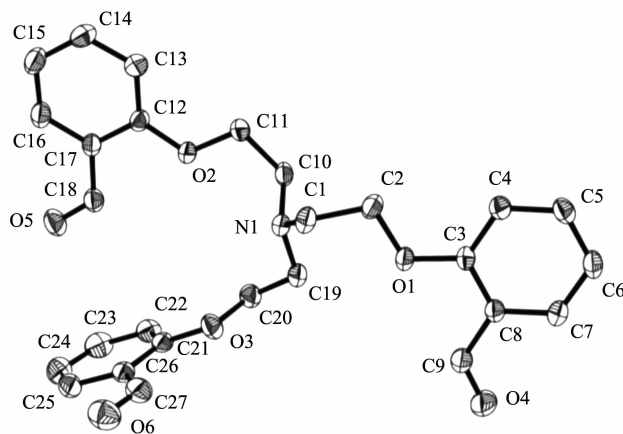


图 1 配体 L 的晶体结构图

Fig.1 Crystal structure of L

表 2 配体 L 的主要的键长及键角

Table 2 Bond lengths and bond (nm) angles ($^\circ$) for ligand and complex

L					
N(1)-C(1)	0.1451(2)	N(1)-C(19)	0.1457(2)	O(1)-C(3)	0.13585(16)
O(2)-C(12)	0.13601(16)	O(3)-C(21)	0.13582(18)	O(5)-C(18)	0.12038(18)
N(1)-C(10)	0.14592(19)	O(1)-C(2)	0.14348(17)	O(2)-C(11)	0.14358(17)
O(3)-C(20)	0.14321(19)	O(4)-C(9)	0.12053(19)	O(6)-C(27)	0.1203(2)
C(1)-N(1)-C(19)	115.47(13)	C(10)-N(1)-C(19)	113.57(13)	C(11)-O(2)-C(12)	118.89(11)
C(8)-C(9)-O(4)	124.66(16)	C(27)-C(26)-O(6)	126.21(18)	C(1)-N(1)-C(10)	114.41(13)
O(9)-Co(1)-O(1)	112.27(11)	C(2)-O(1)-C(3)	117.70(11)	C(20)-O(3)-C(21)	119.60(13)
C(18)-C(17)-O(5)	124.19(16)	N(1)-C(10)	1.4592(19)		

Continued Table 2

Complex					
Hg(1)-Cl(1)	0.2323	Hg(1)-N(1)	0.2598	Hg(1)-O(4)	0.3038
Hg(1)-Cl(2)	0.2320	Hg(1)-O(1)	0.2749	Hg(1)-O(6)	0.2939
Cl(1)-Hg(1)-Cl(2)	165.89	Cl(2)-Hg(1)-N(1)	98.94	Cl(1)-Hg(1)-O(4)	78.84
Cl(2)-Hg(1)-O(1)	87.36	Cl(2)-Hg(1)-O(6)	88.16	N(1)-Hg(1)-O(4)	130.72
O(1)-Hg(1)-O(4)	105.20	O(4)-Hg(1)-O(6)	65.16	Cl(1)-Hg(1)-N(1)	94.06
O(9)-Co(1)-O(1)	112.27(11)	Cl(1)-Hg(1)-O(1)	90.00	Cl(1)-Hg(1)-O(6)	92.04
Cl(2)-Hg(1)-O(4)	88.47	N(1)-Hg(1)-O(1)	123.66	N(1)-Hg(1)-O(6)	66.48
O(1)-Hg(1)-O(6)	169.48				

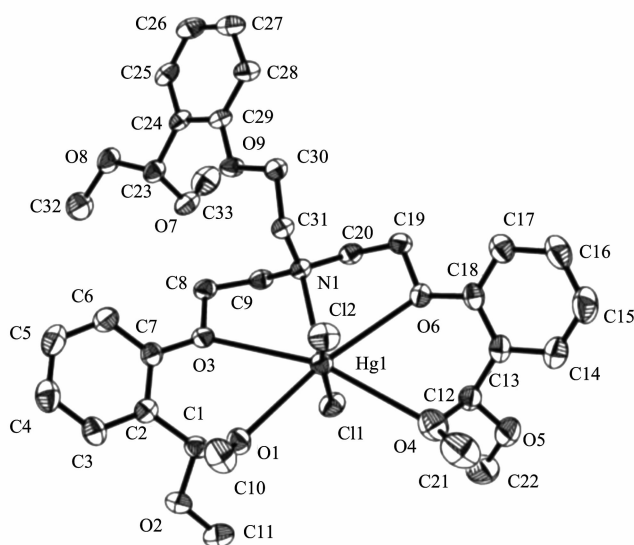


图 2 配合物的晶体结构图

Fig.2 Crystal structure of complex

2.2 配合物与 DNA 的相互作用研究

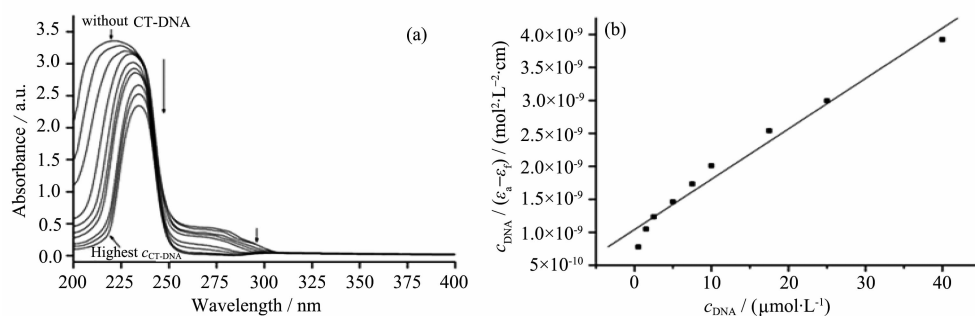
2.2.1 紫外吸收光谱

配合物与 CT-DNA 作用的紫外吸收光谱变化如图 3 所示。配合物在 220 nm 附近有很强的吸收峰,这主要归于配合物中的 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁。随着所加入 DNA 浓度的逐渐增加,配合物的吸收峰强度逐渐降低,并伴随有较明显的红移。吸收峰强度降低了 30.3%,向高波数分别红移了 12 nm。这种特征的紫外吸收光谱的变化说明了配合物与 DNA 之间以插入方式发生相互作用^[14]。在这种作用模式下,插入配体的 π^* 轨道与碱基对的 π 轨道发生耦合,降低 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁的能量;其次,由于耦合的 π^* 轨道部分填充电子,降低跃迁的可能性;因此当配合物与 DNA 以插入方式结合时会同时出现吸收峰降低及红移现象^[15]。

为了定量的比较配合物与 DNA 的结合力,我们利用配合物的最强吸收峰的强度变化计算了它们与 DNA 作用的结合常数。由图 3 可知,配合物与 DNA 的结合常数为 $7.34 \times 10^5 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$ 。

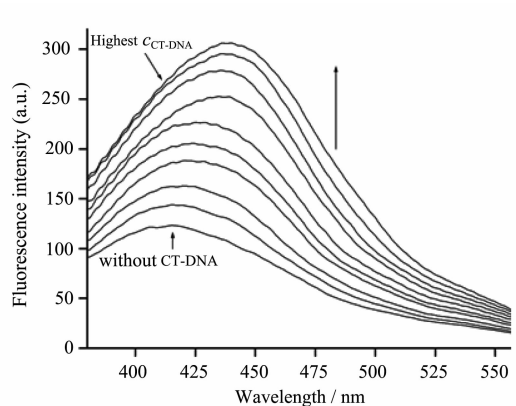
2.2.2 荧光光谱分析

配合物与 DNA 作用的荧光光谱变化如图 4 所示。在未加入 DNA 的情况下,配合物在 Tris-HCl 缓冲溶液中表现出较弱的荧光发射强度。随着 DNA 浓度的不断增加,配合物的荧光发射强度也在不断增大,并且配合物还发生了较明显的红移现象。这是由于当配合物插入 DNA 碱基对后, DNA 双螺旋结构内的疏水环境以及配合物中平面芳香基团与碱基对形成耦合堆积,降低了水分子与配合物碰撞频率,从而产生荧光敏化作用^[16];配合物的红移现象与其紫外吸收光谱相一致。这又进一步说明了配合物与



(a) 2 mL 10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ complex in the presence of 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 μL $1.0 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ CT-DNA

图 3 (a) 配合物与 CT-DNA 作用的紫外可见吸收光谱变化; (b) 配合物与 CT-DNA 作用的 $c_{\text{DNA}}/(\epsilon_a - \epsilon_f)$ 对 c_{DNA} 的曲线图
Fig.3 (a) Electronic spectra of the complex in the presence of CT-DNA; (b) plots of $c_{\text{DNA}}/(\epsilon_a - \epsilon_f)$ versus c_{DNA} of the titration of DNA with the complex



2 mL 10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ complex in the presence of 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 μL $1.0 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ CT-DNA

图 4 配合物与 CT-DNA 作用的荧光光谱变化

Fig.4 Fluorescence spectra of the complex reacted with CT-DNA

CT-DNA 之间存在着明显的插入结合相互作用。

2.2.3 粘度

为了进一步证实配合物与 CT-DNA 之间的相互作用,我们做了配合物对 CT-DNA 粘度影响实验。由于流体动力学方法对长度的变化非常敏感 (如粘度、沉降),能够对溶液中的结合方式研究提供最客观、最重要的测试数据^[17]。经典插入试剂插入到 DNA 双螺旋结构内,相邻碱基对为容纳插入配体而被拉伸,导致 DNA 双螺旋伸长,溶液的粘度增加。如图 5 所示,CT-DNA 的粘度随着配合物浓度的增加而逐渐变大。粘度实验清晰的表明,化合物 **1**、**2** 以插入方式与 DNA 相结合,插入到相邻碱基对的中间,从而导致 DNA 双螺旋链的拉伸,提高了 DNA 的粘度。粘度实验进一步验证了先前从光谱研究中所得出的结论。

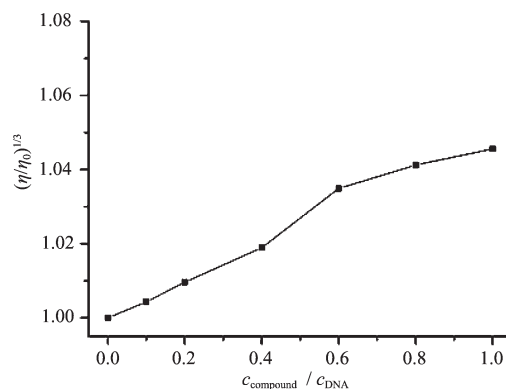


图 5 25 $^{\circ}\text{C}$ 下配合物对 CT-DNA 粘度的影响

Fig.5 Effect of increasing amounts of the complex on the relative viscosity of DNA

3 结 论

综上所述,本文设计合成了含有 N、O 配位原子的三足配体 L,该配体与汞离子生成非常稳定的配合物,遏制了氯化汞等对生物体及环境的危害。通过元素分析、红外光谱、X 射线单晶衍射等测试手段对该配合物的组成和结构进行了表征。此外,我们还对金属配合物与 CT-DNA 的相互作用进行了系统研究,通过紫外吸收光谱、荧光光谱、粘度的测试,结果显示该配合物与 CT-DNA 以插入方式相结合。

参考文献:

- [1] Feng X B, Lu J Y, Hao Y J, et al. *Anal. Bioanal. Chem.*, **2003**, *376*: 1137-1140
- [2] Hansen J C, Dasher G, *J. Rev. Environ. Health*, **1997**, *12*: 107-116

- [3] Ghosh S, Rechtes M, Gazit E, et al. *J. Angew. Chem., Int. Ed.*, **2007**,**46**:2002-2004
- [4] Yoshizawa M, Miyagi S, Kawano M, et al. *J. Am. Chem. Soc.*, **2004**,**126**(30):9172-9173
- [5] Singh A S, Bharadwaj P K. *Dalton Trans.*, **2008**,**6**:738-741
- [6] Ward K. *J. Am. Chem. Soc.*, **1935**,**57**:914-916
- [8] Wolfe A, Shimer G H, Meehan T. *Biochemistry*, **1987**,**26**:6392-6396
- [9] Howe G, Wu K, Bauer W. *Biochemistry*, **1976**,**15**:4333-4339
- [10] Satyanarayana S, Dabrowiak J C, Chaires J B. *Biochemistry*, **1992**,**31**:9319-9324
- [11] Sheldrick G M. *SHELXTL-97, Program for X-ray Crystal Structure Solution*, Göttingen: University of Göttingen, **1997**.
- [12] Weber G, Sheldrick G M. *Acta Cryst.*, **1980**,**36**:1978-1980
- [13] Bowmaker G A, Assadollahzadeh B, Brodie A M, et al. *Dalton Trans.*, **2005**,**9**:1602-1612
- [14] ZHAO Hai-Yan(赵海燕), MA Jing-Jun(马晶军), YANG Fu-Li(杨美丽). *Chinese J. Inorg. Chem. (Wuji Huaxue Xuebao)*, **2012**,**11**:2468-2472
- [15] Eriksson M, Leijon M, Hiort C, et al. *Biochemistry*, **1994**, **33**:5031-5040
- [16] Efink M R, Ghiron C A. *Anal. Biochemistry*, **1981**,**114**:199-227
- [17] Xiong Y, He X F, Zou X H, et al. *J. Chem. Dalton Trans.*, **1999**,**1**:19-23