

钕配合物在生物无机化学中的应用

刘学文 著

钕配合物在生物无机化学中的应用



刘学文 著

 南京大学出版社

图书在版编目(CIP)数据

钌配合物在生物无机化学中的应用 / 刘学文著.
— 南京: 南京大学出版社, 2014. 12
ISBN 978-7-305-14475-2

I. ①钌… II. ①刘… III. ①钌化合物—应用—生物
化学—无机化学 IV. ①O614.82 ②Q5

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2014)第 295456 号

出版发行 南京大学出版社
社 址 南京市汉口路 22 号 邮 编 210093
出 版 人 金鑫荣
书 名 钌配合物在生物无机化学中的应用
著 者 刘学文
责任编辑 揭维光 蔡文彬 编辑热线 025-83686531
照 排 南京南琳图文制作有限公司
印 刷 南京新洲印刷有限公司
开 本 880×1230 1/32 印张 7.5 字数 201 千
版 次 2014 年 12 月第 1 版 2014 年 12 月第 1 次印刷
ISBN 978-7-305-14475-2
定 价 26.00 元

网址: <http://www.njupco.com>
官方微博: <http://weibo.com/njupco>
官方微信号: njupress
销售咨询热线: (025) 83594756

* 版权所有, 侵权必究

* 凡购买南大版图书, 如有印装质量问题, 请与所购
图书销售部门联系调换

前 言

自 20 世纪 70 年代开始,生物无机化学成为化学和生物学交叉领域中一个非常活跃的部分,并紧密结合了生物学和医学中的实际问题。钌配合物由于在生物学中与铁的相似性及丰富的光物理性质,正被广泛应用于生物无机化学领域,从核酸结构探针到细胞成像试剂,从 DNA 断裂试剂到 PDT 试剂及金属药物,从核酸分子“光开关”到生物大分子及生理活性小分子的检测等等,都取得了大量的重要科研成果,也吸引了更多的科研工作者投身于生物无机化学领域的研究。

本书介绍了钌配合物在生物无机化学领域的最新进展,并结合了作者在钌配合物与核酸相互作用研究领域多年研究成果编写而成。本书共分为六章。第一章介绍钌配合物的合成,并着重介绍当前应用于生物无机化学领域的钌配合物的合成策略。第二章介绍钌配合物与核酸的结合模式、研究方法、影响因素等。第三章介绍钌配合物的 DNA 断裂及机理,进而介绍了它们在 PDT 试剂中的研究进展。第四章介绍钌配合物作为抗肿瘤药物的进展,并对不同类型和作用于不同靶点的具有抗肿瘤活性钌配合物作了介绍。第五章介绍可作为核酸分子“光开关”的钌配合物及其机制。第六章介绍钌配合物作为发光探针检测生物大分子及生理活性小分子,并对钌配合物应用于细胞成像作了介绍。这些方面是当前钌配合物在生物无机化学领域中的主要应用方向,也是研究最为活跃的地方。

本书为钌配合物的应用综述,可作为从事生物无机化学尤其是以钌配合物为研究工具的科研工作者的参考书。

本书从编写到出版得到了湖南文理学院化学化工学院湖南省“十二·五”重点建设学科——应用化学和材料科学与工程湖南省大学生创新训练中心的资助,同时得到了南京大学出版社编辑的很多宝贵意见,在此表示衷心感谢。

由于编者水平有限,研究方向有偏重,缺点和错误在所难免,若书中有错漏之处,恳请专家和读者见谅并批评指正。

编 者

2014 年 10 月

目 录

第 1 章 钌配合物的合成	1
1.1 引言	1
1.2 多吡啶类钌配合物的合成	2
1.2.1 $[\text{Ru}(\text{L}_1)_2(\text{L}_2)]^{2+}$ 型双齿单核钌配合物的合成	2
1.2.2 $[\text{Ru}(\text{L}_1)(\text{L}_2)(\text{L}_3)]^{2+}$ 型双齿混配单核钌配合物的合成	6
1.2.3 含三齿多吡啶配体的单核钌配合物的合成	8
1.2.4 多吡啶类多核钌配合物的合成	12
1.3 钌卟啉配合物的合成	13
1.4 芳烃钌配合物的合成	16
1.5 环金属钌配合物的合成	17
1.6 DMSO 类钌配合物的合成	19
1.7 胺和亚胺类钌配合物的合成	20
1.8 小结	21
第 2 章 钌配合物与核酸的相互作用研究	34
2.1 引言	34
2.2 核酸的组成和结构	35
2.2.1 双链 DNA	35
2.2.2 三螺旋 DNA	37

2.2.3	G4-DNA	38
2.2.4	DNA 交叉结构	39
2.2.5	RNA	40
2.3	钆配合物与核酸作用的基本模式.....	40
2.3.1	共价结合.....	40
2.3.2	非共价结合.....	41
2.4	钆配合物与 DNA 相互作用的研究方法	43
2.4.1	电子吸收光谱.....	43
2.4.2	荧光光谱.....	45
2.4.3	圆二色谱.....	50
2.4.4	线二色谱.....	51
2.4.5	瞬时共振拉曼光谱.....	52
2.4.6	流体力学方法.....	53
2.4.7	凝胶电泳法.....	54
2.4.8	高分辨核磁共振(NMR)谱法	56
2.4.9	DNA 热变性技术	58
2.4.10	单晶 X-射线衍射	60
2.4.11	密度泛函计算与分子模拟	61
2.5	影响配合物与 DNA 相互作用的因素	65
2.5.1	核酸结构的影响.....	65
2.5.2	配合物形状的影响.....	66
2.5.3	插入配体的影响.....	67
2.5.4	辅助配体的影响.....	70
2.6	小结.....	71
第3章	钆配合物作为 DNA 断裂试剂的研究	91
3.1	引言.....	91
3.2	DNA 断裂产物检测方法	92
3.2.1	凝胶电泳.....	92

3.2.2 高效液相(HPLC)	93
3.2.3 光学方法	93
3.3 钆配合物 DNA 断裂机理	94
3.3.1 水解断裂	94
3.3.2 氧化还原机理	98
3.3.3 钆配合物光致 DNA 断裂机理	100
3.4 钆配合物在光动力学诊疗中的研究	106
3.4.1 光动力学疗法的机理	108
3.4.2 钆配合物光敏剂	109
3.5 小结	115
第 4 章 钆配合物的抗肿瘤活性研究	126
4.1 引言	126
4.2 钆配合物的抗肿瘤活性	127
4.2.1 氨和亚胺类	128
4.2.2 二甲亚砜(DMSO)类	129
4.2.3 多吡啶类	132
4.2.4 钆(II)-芳烃类	134
4.3 端粒酶抑制剂	136
4.4 DNA 拓扑异构酶抑制剂	139
4.5 蛋白激酶抑制剂	142
4.6 小结	145
第 5 章 钆配合物作为分子光开关的研究	159
5.1 引言	159
5.2 钆配合物分子光开关	160
5.2.1 基于核酸结合的分子光开关	160
5.2.2 基于核酸结合和金属离子的分子光开关	165

5.2.3 基于配体氧化还原的分子光开关	168
5.2.4 pH 分子光开关	168
5.2.5 温度调控的分子光开关	170
5.3 DNA 分子光开关机制和理论解释	172
5.4 小结	174
第 6 章 钌配合物作为荧光探针的研究	181
6.1 引言	181
6.2 基于钌配合物的离子检测	182
6.2.1 金属阳离子检测	182
6.2.2 阴离子检测	187
6.2.3 基于钌配合物的 pH 荧光探针	192
6.3 基于钌配合物的光学氧气传感器	194
6.4 荧光探针检测生理活性小分子	198
6.4.1 NO 的检测	198
6.4.2 H ₂ S 的检测	201
6.4.3 ClO ⁻ 的检测	202
6.5 荧光探针检测巯基化合物	203
6.6 荧光探针检测核酸	205
6.7 基于钌配合物和纳米材料的荧光传感器	208
6.7.1 基于钌配合物和量子点的 DNA 传感器	209
6.7.2 基于钌配合物和氧化石墨烯的 DNA 传感器	213
6.7.3 基于钌配合物和其他纳米材料的 DNA 传 感器	215
6.8 基于钌配合物荧光探针的细胞成像	215
6.9 小结	219

第 1 章 钌配合物的合成

1.1 引言

生物无机化学或无机生物化学是介于生物化学与无机化学之间的内容十分广阔的边缘学科。广义地说,生物无机化学是在分子水平上研究生物体内与无机元素(包括生命金属与大部分生命非金属)有关的各种相互作用的学科。而金属离子及其配合物在很多生物过程中起着重要作用,如固氮作用、光合作用、人体内氧的输送以及很多金属酶的生物活性等^[1~3]。而钌配合物,特别是八面体钌多吡啶类配合物的研究十分活跃^[4~42],这是因为与其他类型配合物相比,钌配合物具有独特的与 DNA 结合的能力、良好的激发态活性、抗肿瘤活性、刚性平面、热力学稳定性好、取代惰性、光化学和光物理信息丰富等特征。这些特征使这类配合物在分子生物学、医学、生物无机化学等许多领域中具有重要的应用背景。同时钌配合物具有“右手”和“左手”两种构型,且不易消旋化。目前,钌配合物已被广泛用于研究与不同结构核酸的结构探针、化学核酸酶、抗肿瘤药物、拓扑异构酶抑制剂、端粒酶抑制剂、细胞染色等许多与生命体密切相关的领域中,也应用于金属离子和某些生物分子的检测。因此引起化学界、生物界、物理界和医学界的广泛注意,成为生物无机化学在国际上十分活跃的前沿课题及多学科交叉的

研究领域。本章主要介绍应用于生物无机化学的钌配合物的合成方法。

目前用于上述研究的钌配合物按配体分类,主要可分为多吡啶类、卟啉类、芳烃类、环金属类、二甲亚砜(DMSO)类及胺和亚胺类等。本章将举例介绍应用于生物无机化学中的钌配合物的合成策略及合成方法。

1.2 多吡啶类钌配合物的合成

1.2.1 $[\text{Ru}(\text{L}_1)_2(\text{L}_2)]^{2+}$ 型双齿单核钌配合物的合成

多吡啶类双齿单核钌配合物,该类型配合物拥有两个相同的辅助配体,随着主配体结构的不同而采取不同的合成方法和策略。

在合成时常采用的第一种策略为先合成配体,然后在氩气保护下采用钌前体 $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{L}_1)_2\text{Cl}_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ^[43] 与相应配体反应得到。这类配合物通过形成高氯酸盐或六氟磷酸盐形式获得沉淀而分离,再采取柱色谱法纯化。当配合物水溶性差时,会采用四丁基氯化铵生成钌配合物的氯盐。下面以 $[\text{Ru}(\text{phen})_2(6\text{-OH-dppz})]^{2+}$ ^[44] 为例说明,其合成路线如图 1-1。

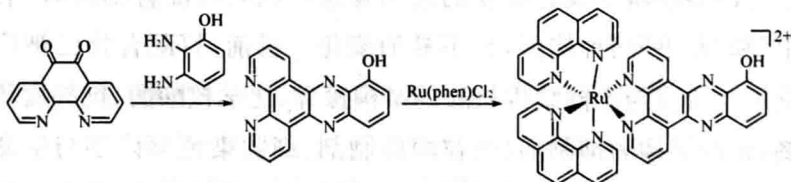


图 1-1 配合物 $[\text{Ru}(\text{phen})_2(6\text{-OH-dppz})]^{2+}$ 合成路线之一

前体 $cis-[Ru(phen)_2Cl_2] \cdot 2H_2O$ 的合成^[43]: 称取 $RuCl_3 \cdot 6H_2O$ 1.56 g (约 6 mmol), 邻菲咯啉 2.40 g (12 mmol) 和氯化钾 1.68 g (28 mmol), 将其溶于 10 mL DMF 中, 氩气保护下加热回流 8 h。冷至室温后, 加 50 mL 丙酮, 冷冻过夜。抽滤, 沉淀用冰水、冷的丙酮洗净后, 真空干燥, 得紫黑色微晶。

6-羟基-二吡啶并[3, 2-a, 2', 3'-c]吩嗪 (6-OH-dppz) 的合成^[44]: 邻菲咯啉-5, 6-二酮 0.21 g (1 mmol), 2, 3-二氨基苯酚 0.124 g (1 mmol) 溶于 20 mL 乙醇中, 加热回流 4 h, 停止反应, 冷至室温, 得到黄色沉淀, 抽滤, 用乙醇洗涤, 真空干燥得黄色固体。

$[Ru(phen)_2(6-OH-dppz)](ClO_4)_2$: 称取 0.12 g $cis-[Ru(phen)_2Cl_2] \cdot 2H_2O$ (0.2 mmol) 和 0.060 g 6-OH-dppz (0.2 mmol), 加入 20 mL 乙二醇, 加热至 140 °C 氩气保护下反应 2 h, 得红色清液。冷却至室温, 加 60 mL 水稀释后, 加入 $NaClO_4$ 的饱和溶液即产生大量红色沉淀。抽滤, 用水、乙醚洗

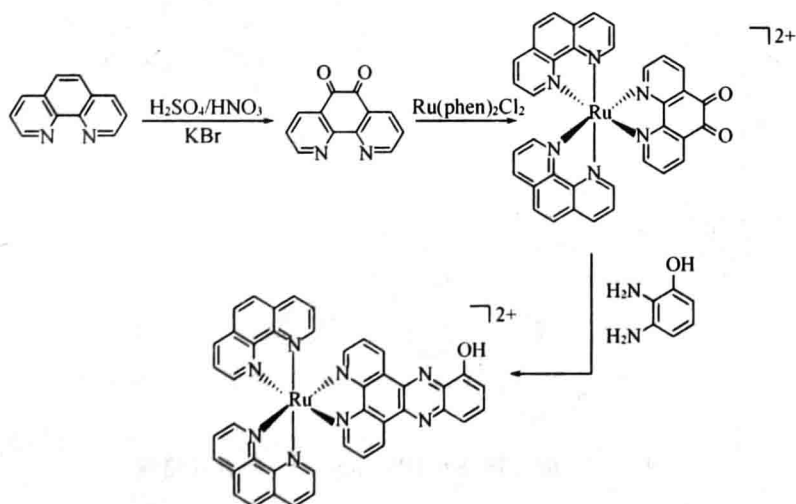


图 1-2 配合物 $[Ru(phen)_2(6-OH-dppz)]^{2+}$ 合成路线之二

涤数次后干燥。将干燥后的粗产品用少量乙腈溶解,用中性氧化铝(200 mesh)柱分离。用 $V(\text{乙醇}) : V(\text{乙腈}) = 1 : 20$ 混合溶剂淋洗下收集红色组分,然后减压,蒸去溶剂,得红色晶体。

上述配合物也可采用第二种方法制备,见图 1-2。这种方法通常先合成适当的钌前体化合物,再发生配体上的反应而得到目标化合物。如 $[\text{Ru}(\text{phen})_2(6\text{-OH-dppz})]^{2+}$ 可先用 $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{phen})_2\text{Cl}_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 与邻菲咯啉二酮(phendione)反应得到生成钌配合物 $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{phendione})]^{2+}$ ^[45], 然后 $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{phendione})]^{2+}$ 与 2,3-二氨基苯酚在冰乙酸中反应得到。

再如 $[\text{Ru}(\text{ip})_2(\text{idpq})]^{2+}$ ^[46] 的合成,可采用第一种方法合成,其合成路线见图 1-3。首先合成前体 $[\text{Ru}(\text{ip})_2\text{Cl}_2]$, 然后与配体 idpq 反应,得到相应钌配合物。前体 $[\text{Ru}(\text{ip})_2\text{Cl}_2]$ 的合成^[47] 与 $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{phen})_2\text{Cl}_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 的方法相似。

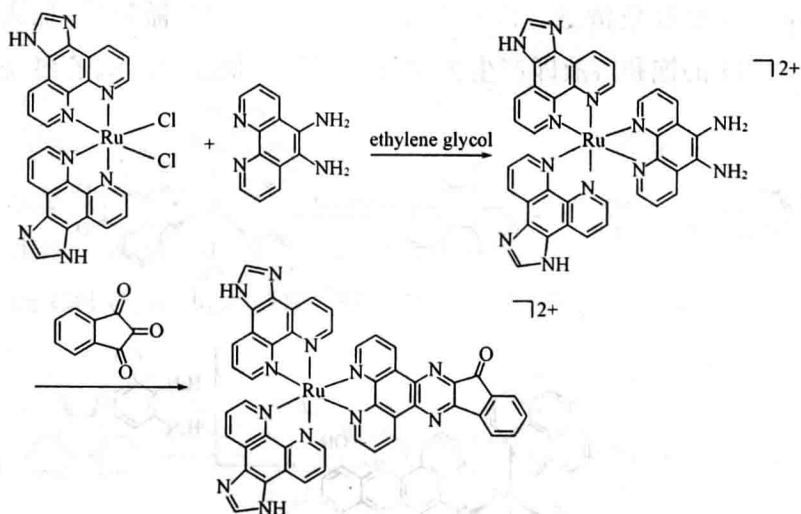


图 1-3 配合物 $[\text{Ru}(\text{IP})_2(\text{idpq})]^{2+}$ 的合成路线

如果配合物中含有桥连配体时,要得到单核配合物就需要

采取适当的合成策略,以防止形成双核或多核配合物,这同样可采用第二种方法。如我们课题组^[48]合成的 $[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{pyip}]^{2+}$ (pyip=2-(2-吡啶基)咪唑并[5,6-f]1,10-邻菲咯啉)中的 pyip 配体即为桥连配体,在合成其单核钌配合物时,为了防止生成双核钌配合物,先合成钌配合物前体 $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(5,6-(\text{NH}_2)_2\text{-phen})](\text{ClO}_4)_2$ ^[49],再通过配体上的反应得到目标产物,见图 1-4。

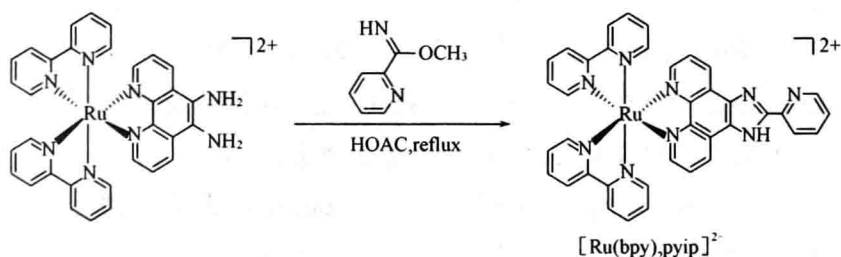


图 1-4 配合物 $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{pyip})]^{2+}$ 的合成路线^[48,49]

$[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{pyip}]^{2+}$ 的合成: 0.247 g $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(5,6-(\text{NH}_2)_2\text{-phen})](\text{ClO}_4)_2$ (0.3 mmol) 溶于 10 mL 冰乙酸中, 再加入 0.6 mL 吡啶-2-甲酰亚胺甲酯反应液, 氩气保护下加热回流 4 h, 得深红色清液, 冷至室温。用 40 mL 水稀释, 小心滴加 25% 氨水中和, 加入饱和 NaClO_4 溶液即产生大量橙红色沉淀。抽滤, 用水、乙醚洗涤数次后干燥。将干燥后的粗产品溶于少量乙腈, 过中性氧化铝柱(100~200 目), 乙腈: 甲苯=5:1 混和溶剂淋洗下主要橙红色组分, 然后减压蒸去溶剂, 得红色微晶。

第三种方法是先合成前体 $[\text{Ru}(\text{L}_2)\text{Cl}_4]$, 然后让前体化合物与 2 倍物质的量的配体 L_1 反应得到目标配合物。如 $[\text{Ru}(\text{btz})_2\text{dppz}]^{2+}$ ^[50]的合成, 见图 1-5。首先合成前体 $[\text{Ru}(\text{dppz})\text{Cl}_4]$ ^[51], 再与 2 倍物质的量的 btz 配体于乙二醇在氩

气保护下回流 6 小时得到。

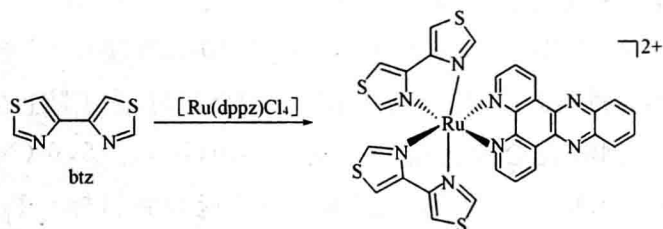


图 1-5 配合物 $[\text{Ru}(\text{btz})_2(\text{dppz})]^{2+}$ 的合成路线^[50]

$[\text{Ru}(\text{dppz})\text{Cl}_4]$ 的合成: 0.557 2 g $\text{RuCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 和 0.758 3 g dppz 溶于 50 mL $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸中, 氮气保护下搅拌 30 分钟, 并在氮气下放置 10 天。不溶物过滤, 水洗, 干燥。

$[\text{Ru}(\text{btz})_2\text{dppz}]^{2+}$ 的合成: $[\text{Ru}(\text{dppz})\text{Cl}_4]$ 与 2 倍物质的量的 btz 配体溶于乙二醇, 氩气下回流 6 小时, 冷却加入适量水, 加入 NaClO_4 的饱和溶液沉淀。抽滤, 用水、乙醚洗涤数次后干燥。过中性氧化铝柱, 得红色晶体。

第四种方法则先生成前体 $[\text{Ru}(\text{DMSO})_4\text{Cl}_2]^{[52]}$ 或 $\text{Ru}(\text{CH}_3\text{CN})_4\text{Cl}_2^{[53]}$, 再和 2 倍物质的量的配体 L_1 反应生成 $[\text{Ru}(\text{L}_1)_2\text{Cl}_2]$, 后面的步骤与前面第一种合成方法相同。该方法主要针对热不稳定或敏感的配体。

$[\text{Ru}(\text{DMSO})_4\text{Cl}_2]^{[52]}$ 的合成^[52]: 1 g $\text{RuCl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 在 5 mL DMSO 中回流 5 分钟, 体积浓缩一半, 加入 20 mL 丙酮, 得黄色沉淀, 过滤, 用丙酮、乙醚洗涤, 真空干燥。

1.2.2 $[\text{Ru}(\text{L}_1)(\text{L}_2)(\text{L}_3)]^{2+}$ 型双齿混配单核钌配合物的合成

此类配合物含有三种不同的双齿配体, 通常采用的合成策略分为三步完成, 第一步采用 $[\text{Ru}(\text{DMSO})_4\text{Cl}_2]^{[52]}$ 与等物质的量的配体 L_1 反应, 取代两分子的 DMSO 生成 $[\text{Ru}(\text{L}_1)(\text{DMSO})_2\text{Cl}_2]$,

第二步再与等物质的量的配体 L_2 反应,生成 $[\text{Ru}(L_1)(L_2)\text{Cl}_2]$,最后和等物质的量的配体 L_3 反应得到目标配合物。第一步反应中溶剂的选择至关重要,Gratzel 等^[54]发现在极性溶剂(如甲醇或乙醇)或高沸点溶剂(DMSO、DMF)会产生单取代和双取代配合物的混合物;在低沸点溶剂如二氯甲烷中则产率偏低(40%以下)。以它们合成的一种 $[\text{Ru}(L_1)(L_2)(L_3)]^{2+}$ 型双齿混配单核钌配合物为例^[54],其中 L_1 为 4,4'-二甲基-2,2'-联吡啶(dmbpy), L_2 为 4,4'-二羧基-2,2'-联吡啶(dcbpy), L_3 为二乙基二硫代氨基甲酸酯(ddtc),见图 1-6。

$[\text{Ru}(L_1)(\text{DMSO})_2\text{Cl}_2]$ 的合成:0.484 g $[\text{Ru}(\text{DMSO})_4\text{Cl}_2]$ 溶于 100 mL 氯仿中,加入 0.184 g dmbpy,氮气下回流 1 小时,反应混和物冷却至室温。用 G4 玻璃坩埚过滤,滤液旋干,再溶于丙酮以除去 $[\text{Ru}(\text{DMSO})_4\text{Cl}_2]$ 。乙醚沉淀,过滤,真空干燥,得桔黄色固体。

$[\text{Ru}(L_1)(L_2)\text{Cl}_2]$ 的合成:该步反应在低光下进行以避免发生顺反异构化。0.4 g $[\text{Ru}(L_1)(\text{DMSO})_2\text{Cl}_2]$ 溶于 100 mL DMF 中,加入 0.19 g dcbpy。反应器用铝箔包裹,氮气下回流 4 小时。反应混和物冷至室温,过滤,滤液旋干,再溶于甲醇,过滤。加入乙醚沉淀配合物,重结晶于甲醇、乙醚和石油醚的混合溶剂中。

$[\text{Ru}(L_1)(L_2)(L_3)]^{2+}$ 的合成:0.25 g $[\text{Ru}(L_1)(L_2)\text{Cl}_2]$ 溶于 250 mL 甲醇和 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaOH(3:1)的混合溶剂中,10 mL 二乙基二硫代氨基甲酸钠(0.12 g)的水溶液加入,反应器用铝箔包裹,氮气下回流 6 小时。反应混和物冷却至室温。过滤,滤液旋干,固体溶于水中,用 $0.05 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 硝酸调节到 pH 小于 3,0℃下冷冻过夜,用 G4 玻璃坩埚过滤,pH 约 3.5 的水洗三次,真空干燥。粗产品过中性氧化铝柱,用含 $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$

NaOH 的甲醇用洗脱剂。进一步纯化采用 sephadex LH-20 凝胶柱色谱。

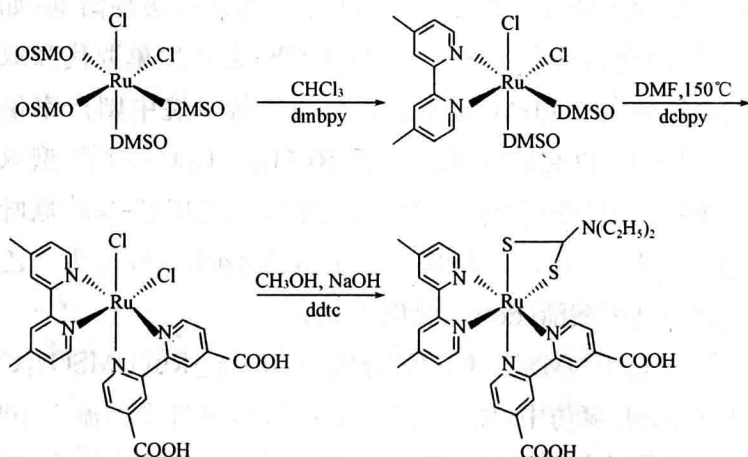


图 1-6 配合物 $[\text{Ru}(\text{L}_1)(\text{L}_2)(\text{L}_3)]^{2+}$ 的合成路线^[54]

1.2.3 含三齿多吡啶配体的单核钌配合物的合成

目前对多吡啶钌配合物的设计,大部分的工作集中在类似于双齿模型配合物 $[\text{Ru}(\text{phen})_3]$ 及 $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ 的研究,对 phen 或 bpy 进行修饰或替换合成了一系列结构各异,性能良好并呈现出广阔应用前景的配合物^[4~8,55~61],而含三齿多吡啶类配体的钌配合物研究较少^[62~65],其原因之一是三齿配体较难修饰^[64]。而事实上,由于三齿配体比 bpy 的配位能力强,还原电位高,并且与钌配位时有较小的螯合角(biting angles)和较大的分子内张力,配体场较弱。而这些与双齿多吡啶配体不同的特征使得含三齿多吡啶配体的钌配合物在光谱性质、DNA 结合能力、抗肿瘤活性等方面具有特别的性质^[64]。下面简述含三齿配体的钌配合物常见的合成方法。