

论文题目：钌(II)多吡啶类配合物与 DNA 相互作用的对接方法研究

专业：物理化学

硕士生：陆海亮

指导老师：郑康成 教授

## 摘 要

钌多吡啶类配合物与 DNA 相互作用已有大量的实验和理论研究,但由于计算条件的限制,对配合物-DNA 超分子模型的完全的量子化学计算尚未可能,现时对这方面的理论研究仍处于单体分开的量子化学研究,或者作为整体的分子力学模拟研究。因此,基于现时的计算条件,选择合适的模型与计算方法,对这类配合物与 DNA 序列的作用规律和作用机理研究无疑是一项很有意义的前沿理论研究工作。

本文选用 $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$ 为分子探针,模拟了 $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$ 与错配 DNA (十个碱基对模型)的整体模型,用分子力学(MM2)、量子化学(DFT)和分子对接(Docking)相结合的方法研究其与错配 DNA 的作用规律。探讨了 $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$ 分子探针对错配 DNA 的大小沟插入选择性、碱基对识别规律、各个碱基对位点的结合能量以及作用构象。在 $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$ 分子探针特异识别的碱基对位点上研究手性 $\Delta, \Lambda$ - $[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{L}]^{2+}$  [ $\text{L}=\text{o-hpip}, \text{m-hpip}, \text{p-hphp}$ ]的大小沟插入选择性、结合能量和作用构象,并进一步研究该系列配合物的手性异构、取代基的不同位置和分子内氢键对错配 DNA 键合性质的影响。计算结果能较好地解释 $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$ 分子探针、 $\Delta, \Lambda$ - $[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{L}]^{2+}$  [ $\text{L}=\text{o-hpip}, \text{m-hpip}, \text{p-hphp}$ ]系列配合物与错配 DNA 的键合规律、解释该类配合物与错配 DNA 作用有关的主要实验现象,为生物活性配合物的分子设计、合成、配合物与 DNA 的作用机理分析,以及在 DNA 介质中配合物间的电子传递及其效应的研究等提供理论化学基础。所得结论如下:

1.  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$ 以插入方式键合到 DNA 碱基序列时,在错配的碱基对中插入后体系的能量显著低于插入前的能量;而在正常配对的 A5T5/T6A6 位点,

插入后体系的能量比插入前的能量高。这说明 $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$ 能插入到 DNA 的错配碱基对中,而不能插入到正常配对的碱基对中。

2.当 $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$ 以插入方式键合到 DNA 各个错配的碱基对中时,在错配的 A4G4/A5T5 位点的结合能比其他位点的结合能大,这表明 $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$ 优先识别 A4G4/A5T5 错配碱基对。在错配的 A4G4/A5T5 位点,  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$ 从小沟方向插入的能量比从大沟插入的能量低约 190Kcal/mol, 表明 $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$ 在该位点应优先从小沟方向插入。

3. 分析键合构象后发现,  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$ 的主配体 dppz 插入到各个位点的相邻两对碱基对中间, 且基本与碱基对平行, 而两个辅助配体位于碱基对外。整个 DNA 骨架由于主配体 dppz 的插入而伸长, 碱基对间的距离增大为原来的约两倍。

4. Docking 计算的结合能与 DFT 计算结果相吻合, 而且对接结果的构象也和分子力学建模优化后得到的构象基本一致, 很好地印证了模型的可靠性。

5.在分子探针特异性识别的错配 DNA 的 A4G4/A5T5 位点, 通过分子力学、量子化学和分子对接相结合的方法, 研究  $\Delta, \Lambda$ - $[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{L}]^{2+}$  [ $\text{L}=\text{o-hpip}, \text{m-hpip}, \text{p-hphp}$ ]与错配 DNA 键合的规律性, 发现上述具有手性异构的六个配合物均能以插入的方式键合到错配 DNA 的 A4G4/A5T5 位点中。

6. DFT 精确能量计算结果表明,  $\Delta, \Lambda$ - $[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{L}]^{2+}$  [ $\text{L}=\text{o-hpip}, \text{m-hpip}, \text{p-hphp}$ ]系列配合物与错配 DNA 作用的键合能倾向为:

$$\begin{aligned}
 E_{\text{binding}}(\Delta\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{o-hpip})]^{2+}) &> E_{\text{binding}}(\Delta\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{m-hpip})]^{2+}) > \\
 E_{\text{binding}}(\Delta\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{p-hphp})]^{2+}); & \\
 E_{\text{binding}}(\Lambda\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{o-hpip})]^{2+}) &> E_{\text{binding}}(\Lambda\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{m-hpip})]^{2+}) > \\
 E_{\text{binding}}(\Lambda\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{p-hphp})]^{2+}) &
 \end{aligned}$$

该理论计算结果和实验所得到的键合常数相吻合。在  $\Delta, \Lambda$ - $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{o-hpip})]^{2+}$ 在主配体 o-hpip 中, 分子内氢键作用扩大了配体的平面性, 更有利于与 DNA 碱基之间的  $\pi$ - $\pi$  作用, 因而  $\Delta, \Lambda$ - $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{o-hpip})]^{2+}$ 与 DNA 的键合作用强度最大。

7.  $\Delta, \Lambda$ - $[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{L}]^{2+}$  [ $\text{L}=\text{o-hpip}, \text{m-hpip}, \text{p-hphp}$ ]的每一个异构体分别从大、小沟插入到 A4G4/A5T5 位点时, 从小沟插入的键合能均比从大沟插入的大

100Kcal/mol 以上, 说明该系列配合物具有明显小沟选择性。

8. 比较  $\Delta, \Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup> [L=*o*-hPIP, *m*-hPIP, *p*-hPHP] 系列配合物同从小沟方向插入的键合能发现, 左旋异构体比右旋异构体的键合能的大; 同在大沟方向插入时, 右旋异构体比左旋异构体的键合能的大。由于错配 DNA 的磷酸骨架在 A4G4/A5T5 位点的小沟方向形成一个拱门状的弯曲, 其凹陷部位正好与左旋  $\Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup> 的两个 bpy 辅助配体空间上吻合, 所以在 A4G4/A5T5 位点的小沟方向键合时, 表现出左旋手性选择性。而从大沟插入到 A4G4/A5T5 位点时, 磷酸骨架螺旋方向正好和右旋  $\Delta$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup> 系列配合物相吻合, 空间位阻较小, 所以在 A4G4/A5T5 位点的大沟方向键合时, 表现出右旋手性选择性。

9. 分子对接结果表明,  $\Delta, \Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup> [L=*o*-hPIP, *m*-hPIP, *p*-hPHP] 六个配合物均能从小沟方向自动对接到错配 DNA 的 A4G4/A5T5 位点。而从大沟方向自动对接到错配 DNA 的 A4G4/A5T5 位点存在一定困难, 分子对接的结果进一步支持了该系列配合物优先从小沟方向键合到错配 DNA 的 A4G4/A5T5 位点。

**关键词** 钌(II), 多吡啶, 金属配合物, 分子力学, DFT, 对接

**Title: Docking Study of the Interaction of  
Ru(II) Polypyridyl Complexes with DNA**

**Major: Physical Chemistry**

**Name: Lu Hailiang**

**Supervisor: Prof. Zheng Kangcheng**

## **Abstract**

The interaction between Ru(II) polypyridyl complexes and DNA has attracted plentiful theoretical and experimental investigations. However, the exact quantum chemistry calculations applying complexes-DNA integral models are still impossible due to computational condition limitation. At present, the theoretical study on the interaction between the complexes and DNA model is only based on the respective calculations of complexes and DNA using quantum chemistry approach, or carried out for the computations of integral complexes-DNA models only using molecular mechanism method. Therefore, in order to perform more valuable theoretical study on the complexes-DNA interactions, establishing suitable complex-DNA models and adopting suitable computation-methodologies is very significant.

In this paper, an integral interaction model between Ru(II) complex and mismatched DNA d(CCGAATGAGG)<sub>2</sub> was simulated, in which [Ru(phen)<sub>2</sub>(dppz)]<sup>2+</sup> (phen = 1,10-phenanthroline, dppz=dipyrido[3,2-a:2',3'-c]phenazine) was chosen as molecular probe. A combined methodology of Molecular Mechanism (MM2), Quantum Chemistry (DFT) and Molecular Docking was applied to study the interaction of [Ru(phen)<sub>2</sub>(dppz)]<sup>2+</sup> with mismatched DNA. The groove selectivity, base pair recognition, binding energy at different base pair site and binding configuration in which [Ru(phen)<sub>2</sub>(dppz)]<sup>2+</sup> as a molecular probe intercalates between mismatched DNA-base-pairs were investigated in detail. On the basis of these testing researches, a series of chiral Ru(II) complexes  $\Delta, \Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup> [L=*o*-hpip, *m*-hpip, *p*-hphp] were selected to carry out the study on their DNA-groove selectivity,

DNA-binding energy and binding configuration at the specific base pair site which has been specially recognized by  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$  molecular probe. The effects of chirality, different position of substitute group and intramolecular hydrogen bond of these studied complexes on complex-DNA interaction were also discussed. The computational results can be used to reasonably explain the interactions between  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$  molecular probe and DNA, as well as  $\Delta, \Lambda$ - $[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{L}]^{2+}$  [ $\text{L} = o\text{-hpip}, m\text{-hpip}, p\text{-hphp}$ ] and DNA, and thus are helpful to understanding the related experimental ones of Ru(II) polypyridyl complex-DNA interactions. Therefore, this work can provide theoretical directions for the design and synthesis of this kind of Ru(II) polypyridyl complex, and the action mechanism analysis between the complex and DNA, as well as the electron transfer study between the complexes and DNA, etc. In this work, some significant conclusions are obtained as follows:

1.  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$  molecular probe binds to mismatched DNA base pairs via classical intercalation and the total energy of Ru(II) complex-DNA integral model is remarkably lower than that before binding. At normal A5T5/T6A6 base pair site, however, the total energy increases dramatically after binding. This trend indicates that  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$  molecular probe can be intercalated into mismatched base pairs but can not be intercalated into normal base pair.

2. At A4G4/A5T5 base pair site, the total energy of Ru(II) complex-DNA integral model is lowest among the mismatched base pairs into which  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$  molecular probe intercalates, suggesting that the probe-intercalation into A4G4/A5T5 site is more preferential than other mismatched sites. Meanwhile, it is further found that at A4G4/A5T5 base pair site, the intercalation of  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$  molecular probe from minor groove is more preferential than that from major groove, based on our calculational result that the binding energy of intercalation from minor groove is  $\sim 190$  Kcal/mol greater than that from major groove.

3. From binding configuration analysis, it can be observed that  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$  molecular probe binds to mismatched DNA in the way that the main ligand dppz intercalates into the interspace of double base pairs and is substantially parallel to neighboring base pairs. The two ancillary ligands phen are blocked outside the double

base pairs. After intercalation, the whole DNA chain is stretched-out and the distance of neighboring base pairs at the intercalation site is doubled.

4. The binding energies calculated from Docking study are in good agreement with DFT computation results. The docking configurations are consistent with the integral model built via Molecular Mechanism, suggesting that Docking study is reliable and can be also used for configuration analysis.

5. At A4G4/A5T5 base pair site which is specially recognized by  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$  molecular probe, the binding energy of each one of a series of Ru(II) complex  $\Delta, \Lambda\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{L}]^{2+}$  [L=*o*-hpip, *m*-hpip, *p*-hphp] and mismatched DNA is greater than 400 Kcal/mol after intercalation, showing that these Ru(II) complexes are easily intercalated into mismatched DNA.

6. The trend of binding energies of Ru(II) complex-DNA is:  $E_{\text{binding}}(\Delta\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\textit{o}\text{-hpip})]^{2+}) > E_{\text{binding}}(\Delta\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\textit{m}\text{-hpip})]^{2+}) > E_{\text{binding}}(\Delta\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\textit{p}\text{-hphp})]^{2+})$  ;  $E_{\text{binding}}(\Lambda\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\textit{o}\text{-hpip})]^{2+}) > E_{\text{binding}}(\Lambda\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\textit{m}\text{-hpip})]^{2+}) > E_{\text{binding}}(\Lambda\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\textit{p}\text{-hphp})]^{2+})$ . This indicates that for both isomers  $\Delta\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{L}]^{2+}$  and  $\Lambda\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{L}]^{2+}$ , the trend of binding energies of this series of Ru(II) complex-DNA is  $E([\text{Ru}(\text{bpy})_2(\textit{o}\text{-hpip})]^{2+}) > E([\text{Ru}(\text{bpy})_2(\textit{m}\text{-hpip})]^{2+}) > E([\text{Ru}(\text{bpy})_2(\textit{p}\text{-hphp})]^{2+})$ , which is in good agreement with experimental results. In the main ligand *o*-hpip of  $\Delta, \Lambda\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\textit{o}\text{-hpip})]^{2+}$ , an intramolecular hydrogen bond enlarges the conjugated plane and reinforces the  $\pi\text{-}\pi$  interaction. It can be used to explain the reason why binding affinity of  $\Delta, \Lambda\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\textit{o}\text{-hpip})]^{2+}$  is the strongest.

7. For each of six isomers  $\Delta, \Lambda\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{L}]^{2+}$  [L=*o*-hpip, *m*-hpip, *p*-hphp], the binding energies from minor groove is  $\sim 100$  Kcal/mol higher than those from major groove, respectively. Thus, the intercalation of  $\Delta, \Lambda\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{L}]^{2+}$  [L=*o*-hpip, *m*-hpip, *p*-hphp] from minor groove is preferential.

8. For all minor groove intercalations of  $\Delta, \Lambda\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{L}]^{2+}$  [L=*o*-hpip, *m*-hpip, *p*-hphp], the binding energise of  $\Lambda\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{L}]^{2+}$  are greater than those of  $\Delta\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{L}]^{2+}$ , while the binding energise of  $\Delta\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{L}]^{2+}$  are greater than those of  $\Lambda\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{L}]^{2+}$  for major groove intercalations. An arch bending is formed on the phosphorus framework of A4G4/A5T5 site in minor groove direction. The sunken

position of this arch bending well fits the two ancillary ligands bpy of  $\Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup>. Thus in case of minor groove intercalation in A4G4/A5T5 site,  $\Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup> is preferential. For the intercalation from major groove direction, the helix direction is consistent with the structure of  $\Delta$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup> and thus  $\Delta$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup> prefers major groove binding.

9. Molecular Docking study also shows that this series of Ru(II) complex  $\Delta, \Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup> [L=*o*-hpip, *m*-hpip, *p*-hphp] can be easily docked into A4G4/A5T5 site from minor groove and much more difficultly docked into this site from major groove. This docking result confirms that minor groove binding in A4G4/A5T5 site is preferential.

Key words: Ru(II), polypyridyl, metal complex, molecular mechanism, DFT, docking

**英文缩写表:**

bpy=2,2-bipyridine ;2,2'-联吡啶

phen= phenanthroline;1,10-邻菲咯啉

hpip=2-(hydroxyphenyl) imidazo[4,5-f] [1,10]-phenanthroline; 2-(邻羟基苯基)-咪唑并[4,5-f]1,10-邻菲咯啉

DFT: Density Functional Theory



## 论文原创性声明

本人郑重声明：所提交的学位论文，是本人在导师的指导下，独立进行研究工作所取得的成果。除文中已经注明引用的内容外，本论文不包含任何其他个人或集体已经发表或撰写过的作品成果。对本文的研究做出重要贡献的个人和集体，均已在文中以明确方式标明。本人完全意识到本声明的法律结果由本人承担。

学位论文作者签名：陆海亮

日期： 2009 年 6 月 5 日

## 学位论文使用授权声明

本人完全了解中山大学有关保留、使用学位论文的规定，即：学校有权保留学位论文并向国家主管部门或其指定机构送交论文的电子版和纸质版，有权将学位论文用于非赢利目的的少量复制并允许论文进入学校图书馆、院系资料室被查阅，有权将学位论文的内容编入有关数据库进行检索，可以采用复印、缩印或其他方法保存学位论文。

学位论文作者签名：陆海亮

日期：2009年6月5日

导师：郑球成

## 知识产权保护声明

本人郑重声明：我所提交答辩的学位论文，是本人在导师指导下完成的成果，该成果属于中山大学化学与化学工程学院，受国家知识产权法保护。在学期间与毕业后以任何形式公开发表论文或申请专利，均需由导师作为通讯联系人，未经导师的书面许可，本人不得以任何方式，以任何其它单位作全部和局部署名公布学位论文成果。本人完全意识到本声明的法律责任由本人承担。

学位论文作者签名：陆海亮

日期：2009年6月5日

# 第 1 章 绪论

## 1.1 引言

近 20 多年来, 金属钌多吡啶配合物及其衍生物与核酸 (DNA、RNA) 的相互作用是生物无机化学<sup>[1-4]</sup>中一个十分活跃、前景广阔的研究领域。

这类易于构造一个既为刚性又带手性的八面体构型的无机 Ru(II)多吡啶配合物热力学稳定性好, 具有独特的与 DNA 结合能力、抗肿瘤活性、激发态活性, 以及丰富的光化学、光物理、光催化、光致电化学、化学荧光、电子荧光、电子和能量转移及非线性光学活性等性能<sup>[2, 3]</sup>。这些特征使这类以金属离子为中心的八面体钌多吡啶配合物被认为是一类较好的 DNA 识别试剂, 在 DNA 结构探针<sup>[1, 3]</sup>、DNA 分子光开关<sup>[4-6]</sup>、DNA 介导的电子转移<sup>[7]</sup>、抗癌药、非线性光学材料以及生物传感器等方面应用广泛<sup>[7-10]</sup>, 因此它们在生命科学、光学控制、环境分析、显微技术、信息技术、催化化学及太阳能利用等领域具有重要的应用和广阔的发展前景。

金属 Ru(II)多吡啶配合物与大分子 DNA 相互作用的研究引起了人们的广泛兴趣, 并已取得了许多令人瞩目的成就<sup>[1, 11]</sup>和激烈的争论<sup>[12, 13]</sup>, 这一领域的研究正在不断的拓展和深入。同时, 量子化学的理论和计算方法在过去二十年中得到了巨大的发展。密度泛函理论 (DFT) 和传统的从头计算 (ab initio) 量子化学方法在解释和预测小分子和中等大小的分子的各种性质方面取得了令人瞩目的成功。继 1981 年福井谦一 (Fukui Kenichi) 因“前线轨道理论”与霍夫曼 (Hoffman) 因“分子轨道对称守恒原理”共同获得诺贝尔 (Nobel) 化学奖以来, 1998 年 J. A. Pople 因“从头计算理论”与 W. Kohn 因“密度泛函理论”又共同获 Nobel 化学奖。正如 Kohn 和 Pople 在诺贝尔化学奖授予颁奖公告中说: “量子化学已经发展成为广大化学家所使用的工具, 将化学带入一个新时代, 在这个新时代里实验和理论能够共同协力探讨分子体系的性质。化学不再是纯粹的实验科学了”。到目前为止, 为了进一步对实验上激烈的争论做出深入的理解和配合, 已经有越来越多的文献报道是把密度泛函理论 (DFT) 等量子化学计算方法应用于过渡金属配合物, 特别是钌这类配合物的电子结构与相关性质的理论研究。这对于从分子的电子结

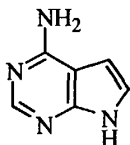
构水平上理解过渡金属配合物与 DNA 相互作用的机理、倾向、相关性质和调控规律,进而指导具有生化活性的过渡金属配合的功能分子设计,以及对其作用机理分析是一项十分有意义的理论研究工作。

由于本研究涉及量子化学与生物无机的前沿及交叉领域,因此,有必要首先介绍量子化学与生物无机两个方面的背景知识,也就是它们的研究方法、研究现状与最新发展。

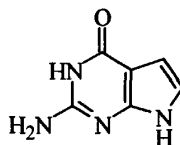
## 1.2 DNA 的分子结构

### 1.2.1 DNA 的结构简介

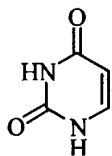
核酸的发现已有 100 多年的历史。但人们对于核酸的真正认识却还是近 40 年的事情<sup>[14-16]</sup>。1953 年美国生物学家 Watson 和英国生物化学家 Crick 建立了 DNA 双螺旋结构模型,这被称为本世纪自然科学中的重大突破之一,揭开了分子生物学研究的序幕。DNA 则主要由含腺嘌呤(Adenine, A)、鸟嘌呤(Guanine, G)、胞嘧啶(Cytosine, C)和胸腺嘧啶(Thymine, T)的核苷酸构成。各碱基的结构式如图 1-1 所示。



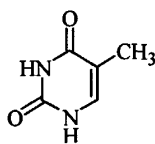
腺嘌呤 (adenine, A)



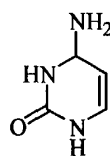
鸟嘌呤 (guanine, G)



尿嘧啶 (uracil, U)



胸腺嘧啶 (thymine, T)



胞嘧啶 (cytosine, C)

图 1-1 核酸中五种碱基的结构

脱氧核糖核酸之间由 3', 5'-磷酸二酯键连接起来形成单键,为 DNA 的一级结构。Watson 和 Crick 提出 DNA 的双螺旋分子模型,即标准 B-DNA 的二级结

构(图 1-2)。B-DNA 的主要结构特征 (1) 由于碱基对与糖环的连接是在同侧, 两条脱氧核苷酸链反向平行, 绕同一螺旋轴向右盘绕, 螺旋表面一条比较深, 称为大沟; 另一条比较浅, 称为小沟; (2) 双螺旋的直径为 2 nm, 螺距为 3.4 nm, 含 10 对脱氧核苷酸, 碱基对排列在螺旋的内侧, 碱基对平面约与螺旋轴垂直, 磷酸基通过磷酸二酯键与脱氧核糖在外侧链接, 形成 DNA 骨架, 碱基对平面间距离 0.34 nm, 链间的两条螺旋形成凹槽, 一条较深, 而另一条较浅, 分别称为大沟和小沟。不同构型的 DNA, 其沟的深浅和宽窄有别; (3) 两链间 A 与 T、G 与 C 配对后碱基对总长约 1.085 nm。A 与 T 形成 2 个氢键, G 与 C 形成 3 个氢键, 即  $A = T$ ,  $G \equiv C$ , 这种只有在 A-T、G-C 之间配对的规律称为碱基互补原则。N-O 原子间, N-N 原子间形成氢键分别相距 0.284 nm 和 0.292 nm。另外, 由于 DNA 分子的磷酸和碱基的排列组合可以形成各种扭转角度和各种碱基排列方式, 主要 A-DNA, B-DNA, C-DNA, D-DNA, E-DNA, Z-DNA 构型, B-DNA 构型是大多数天然 DNA 的存在方式, 而极少部分则是以 Z-DNA 形式存在(如图 1-3 所示)。而在双螺旋结构(二级结构)的基础上, DNA 还可以形成三级结构。

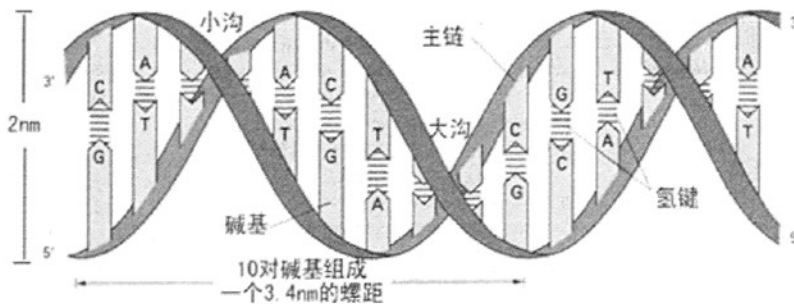


图 1-2 DNA 双链上大沟和小沟分布图

维持 DNA 双螺旋结构的稳定, 主要有三种作用力其主要作用力是碱基堆积力 (base stacking forces)。它是由芳香族碱基的  $\pi$  电子相互作用引起的, 使互补的碱基之间形成氢键。第二种力是互补碱基对之间的氢键, 但氢键的能量不大。第三种力是磷酸残基上的负电荷与介质中的  $K^+$ 、 $Na^+$ 、 $Mn^{2+}$  等阳离子之间形成的离子键。由于在生理 pH 条件下, DNA 分子会由于自身不同部位所带的负电荷而产生斥力作用。

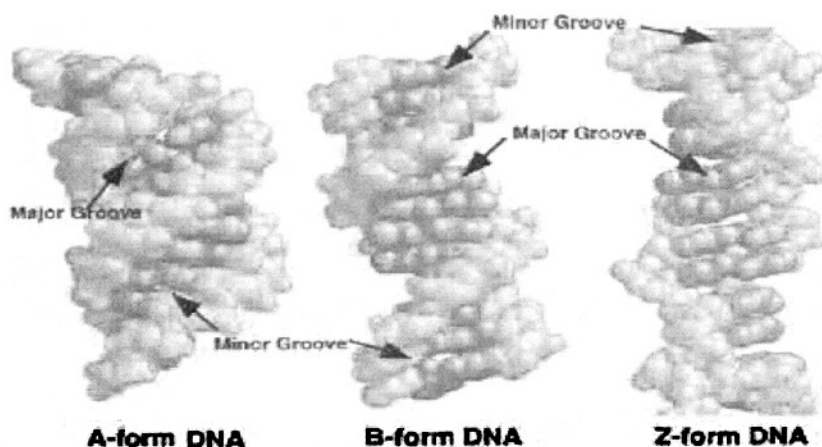


图 1-3 不同构型 DNA 的构象示意图

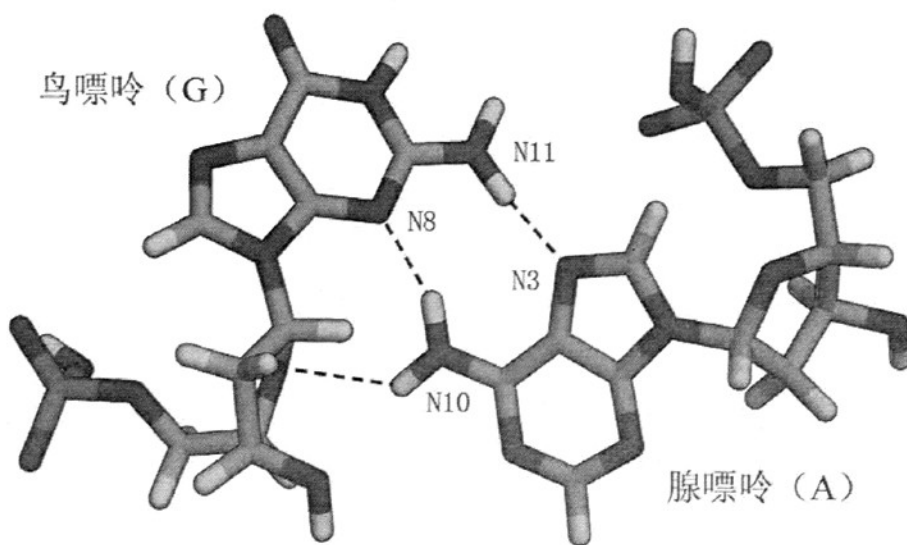
DNA 分子存在着大量的遗传信息, 这种遗传信息通过转录和翻译, 指导了蛋白质和酶的生物合成, 因此 DNA 分子是细胞中的主要靶分子, 它在生命活动中具有极其重要的作用。

### 1.2.2 错配 DNA 的结构特征

在 Watson-Crick 的 DNA 螺旋结构中, AT 碱基对和 GC 碱基对中的氢键对该模型的稳定起到了重要作用, 但还存在另外一些比如碱基堆积力等重要的稳定因素。因此, 在 DNA 复制过程中难免出现一些错配情况, 即碱基不再遵守 Watson-Crick 规则进行配对。另外, 复杂的生化环境会对 DNA 碱基造成巨大的修饰破坏。人类基因大约含  $10^9$  个碱基对, 任何对 DNA 的理化破坏都会影响到 DNA 复制过程, 导致错配甚至断链的发生<sup>[17]</sup>。实验结果也已从不同水平证实了错配 DNA 在生物基因复制过程中的存在。这些错配 DNA 如果不能得到成功修补, 将导致子代细胞中 DNA 分子的变异<sup>[18]</sup>, 进而引发潜在的癌症或者一些遗传疾病<sup>[19]</sup>。

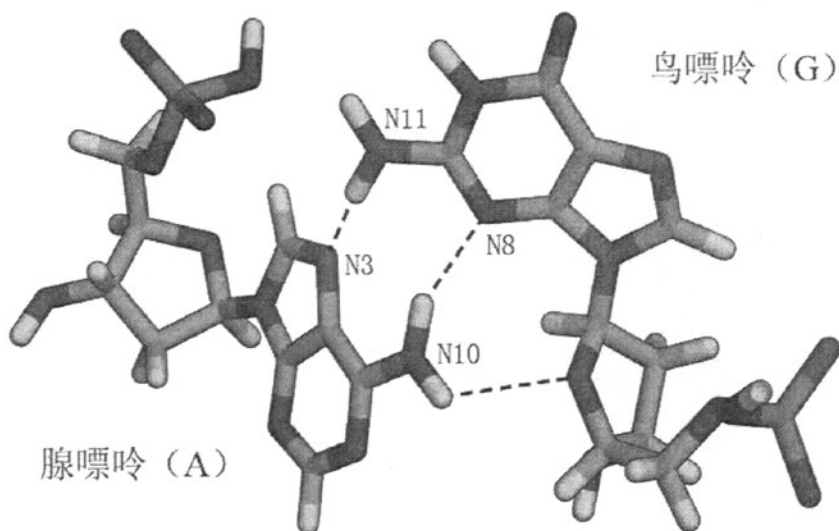
在生命体系中, Watson-Crick 配对与错配碱基配对之间存在竞争。如果不考虑溶液中的瞬时质子化和碱基的定位情况, 四种碱基除正常配对外, 两两组合可构成八种形式的错配碱基对 G×T、A×C、G×G、A×A、G×A、C×C、T×T、C×T。在这些错配形式中, G×A 碱基错配在 DNA 序列中经常出现。人体着丝

点 DNA 序列中包含着异常的重复单元,如染色体中发现有 $(GAATG)_n \times (CATTC)_n$ 重复单元。在这种 DNA 重复单元中,含有多嘌呤的碱基片段会形成螺旋和发夹形式的结构,从而具有很好的稳定性。正是由于“剪式”G×A 碱基错配,才使这种结构的之所以具有高稳定性。G×A 这种错配形式对于配体和蛋白,具有独特的识别表面。研究表明<sup>[20]</sup>,G×A 错配比其它类型的错配更难修复,这一发现引起科学家们极大的兴趣。该错配有多种存在模式<sup>[21]</sup>,其结构受到酸碱性、盐度和错配位置的序列环境等影响<sup>[22-24]</sup>。该错配碱基对对序列的依赖性可能源于错配碱基于相邻碱基之间的偶极-偶极作用和氢键作用<sup>[21]</sup>。G×A 错配构性多样,这对识别及修复系统是一个巨大的挑战,也是生物体内 G×A 错配难以识别修复的重要因素之一。



(a)





(b)

图 1-4 G×A 错配结构示意图。(a)翻转 180° 得到(b)

图 1-4 是 DNA 晶体结构中的一种 G×A 错配结构式，图中碱基对结构来自晶体结构<sup>[20]</sup>。如果不包含水分子作用，G×A 错配自身可以形成三对氢键，两对在碱基之间形成，一对在碱基 A 和对面的糖环之间形成。这些氢键直接影响到错配碱基对的稳定性，进而影响金属配合物对其进行切割的能力。

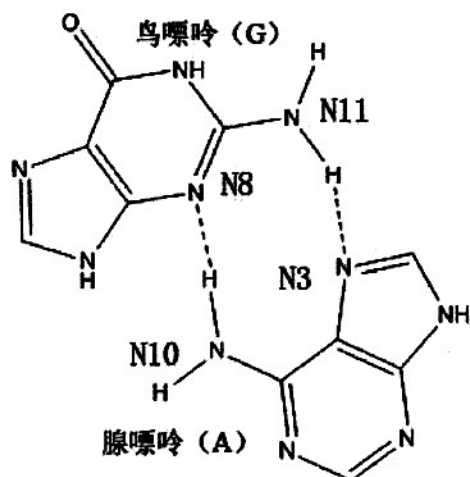


图 1-5 DNA 序列中的 G×A 碱基错配对模型

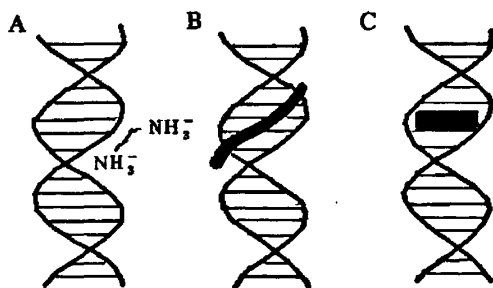
如图 1-5 所示，DNA 序列中的 G×A 碱基错配对模型中，鸟嘌呤(G)的-NH<sub>2</sub>

上的一个氢原子与腺嘌呤(A)上的 N3、鸟嘌呤(G)上的 N8 与腺嘌呤(A) -NH<sub>2</sub> 上的一个氢原子分别形成氢键。错配碱基同正常碱基定位方式的不同, 将导致错配区域大小沟宽度和深度以及 DNA 螺旋结构的变化。因此正常 DNA 序列的识别探针在和错配 DNA 发生作用时, 必然会出现不同的结果。DNA 序列的识别探针在同正常和错配 DNA 进行作用时的差异, 显然是值得探讨的重要课题。

### 1.3 Ru (II)配合物与 DNA 的作用的研究现状

#### 1.3.1 Ru (II)配合物与 DNA 的作用模式

Ru(II)多吡啶配合物与 DNA 作用的模式有共价结合(covalent interaction)和非共价结合(noncovalent interaction)两类。对于非共价结合, 现在比较公认的说法是如下三种模式: 静电作用 (electrostatic interaction); 沟面结合 (groove-face binding); 插入作用 (intercalative interaction), 如图 1-6 所示。



(a) 静电相互作用, (b) 沟面结合作用, (c) 插入作用

图 1-6 小分子化合物与 DNA 相互作用的三种基本模式

**共价结合** 共价结合主要是金属离子和碱基中的氮原子以配位方式形成共价键, 既包括与亲核试剂, 也包括与亲电试剂作用, 主要表现为 DNA 的烷基化及 DNA 的链间交连, 链内交连等。人们最早发现的具有抗癌活性的顺铂[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>] (cis-platin) 以及后来合成的一系列类似顺铂的配合物与 DNA 的作用是通过鸟嘌呤的 N7 原子和铂原子之间形成配位键<sup>[25]</sup>。对于钉多吡啶配合物, 如含有易离去基团的氯离子等 Ru(II)多吡啶配合物 (一般含有易离去基团, 如氯离子等) 也有这样的键合作用, 如[Ru(bpy)<sub>2</sub>(Cl)<sub>2</sub>]及[Ru(tpy)(bpy)Cl]<sup>+</sup>等化合物<sup>[26, 27]</sup>。配合物

首先是通过水解，氯离子离去，形成水合物，然后再与 DNA 共价键合。

**静电作用 (Electrostatic interaction)** 核酸是带负电荷的多聚阴离子，通常以钠盐形式存在，金属离子及许多配合物带有正电荷，因此它们与核酸在外层通常通过静电发生作用，但这种静电结合力是非常弱的。配合物 $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ 就是采用这种模式与 DNA 作用的<sup>[28, 29]</sup>。核酸是一种带负电的多聚阴离子。

**沟面结合 (Groove-face interaction)** DNA 分子的大小沟区在电势能、氢键特征、立体效应，水合作用上都有很大的不同。蛋白质大分子与 DNA 的特异性结合是通过大沟区作用的，而小分子化合物则一般在小沟区与 DNA 结合，主要依靠氢键和碱基的疏水性而起稳定作用。在这一过程中氢键的作用是至关重要的，它能使沟面结合更加稳定。与 DNA 以沟面结合模式作用的配合物如 $[\text{Ru}(\text{tmp})_3]^{2+}$  (tmp= 3,4,7,8-tetramethyl-phenanthroline)，甲基的存在使插入作用受到阻碍<sup>[30]</sup>。配合物以沟面结合的方式与 DNA 作用时，引起的光谱变化相对较小，DNA 的粘度变化不明显，熔点曲线有规律地平移。

**插入结合 (Intercalative interaction)** 含有平面芳香稠环结构的配合物通过平面芳香杂环配体插入 DNA，并且与 DNA 的碱基对重叠，主要依靠氢键、范德华力和大环的  $\pi$ - $\pi$  堆积作用而稳定，受离子强度的影响较小。1961 年，Lerman. L. S. 即已指出，分子具有平面芳环结构是插入 DNA 的必要条件。共扼芳香平面越扩展和延伸则越有利于插入，如 phehat (1,10-phenanthrolino[5,6-b]1,4,5,8,9,12-hexaazatriphenylene), dppz (dipyrido[3,2-a:2',3'-c] phenazine) 等为配体的配合物与 DNA 有较强的插入作用。

图 1-7 给出了  $\Delta$ - $\alpha$ - $[\text{Rh}(\text{R,RMe}_2\text{trien})(\text{phi})]^{3+}$  ( $\text{phi}$  = 9,10-菲二亚胺) 与八聚寡核苷 5'-GTTGCAAC-3' 结合的晶体结构。这是迄今为止分离得到的第一个高分辨率的 (1.2 Å) 多吡啶铑金属配合物与 DNA 位点专一性 (site specific) 结合的晶体结构。晶体数据分析表明，平面多吡啶配体  $\text{phi}$  就像一个碱基一样，插入了 DNA 的碱基对之间并与上下的碱基形成  $\pi$ - $\pi$  堆积，DNA 碱基堆积的完整性并没有因为配合物的插入而遭到破坏<sup>[31, 32]</sup>。

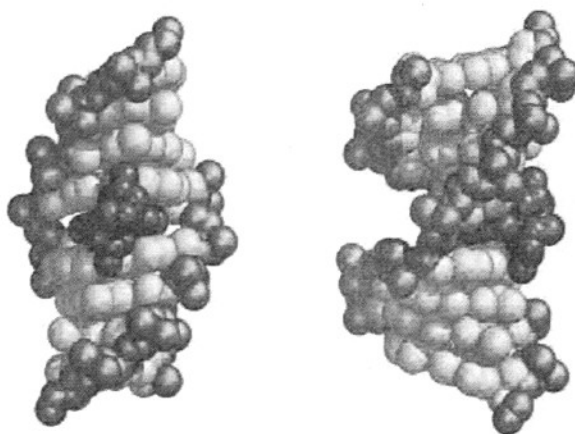


图 1-7 配合物  $\Delta\text{-}\alpha\text{-}[\text{Rh}(\text{R,R})\text{Me}_2(\text{trien})]\text{phi}^{3+}$  ( $\text{phi} = 9,10\text{-菲二亚胺}$ ) 与八聚寡核苷 5'-GTTGCAAC-3' 结合的晶体结构图 (左图旋转  $90^\circ$  得右图)

当配合物与 DNA 通过插入方式结合时, 会引起配合物物化性质的一系列变化。如配合物的吸收光谱强度减弱, 最大吸收峰位移向长波方向移动, 荧光强度增强等现象<sup>[33, 34]</sup>。同时, 由于配合物的插入, 也会导致 DNA 的熔点升高、粘度增大。这是检验小分子化合物是否插入 DNA 的重要手段<sup>[35, 36]</sup>。

### 1.3.2 金属 Ru(II)配合物与核酸相互作用的应用

过渡金属钌多吡啶配合物为刚性又带  $\Delta$  和  $\Lambda$  两种手性构型的八面体, 具有独特的与 DNA 结合能力、抗肿瘤活性、激发态活性、在光化学、光物理、光致电化学、化学荧光、电子荧光、电子和能量转移及非线性光学活性这几方面光学信息丰富。近年来金属配合物与 DNA 的键合之所以引起人们的日益重视, 是因为这类化合物具有以下诱人的应用前景<sup>[37-39]</sup>: (1) 作为核酸非放射性的发光或电化学发光标记物。(2) 可与 DNA 分子在相应的方面匹配, 作核酸二级或三级结构的探针及 DNA 分子光开关, 从而对 DNA 进行特异性识别。(3) 可望帮助人们了解 DNA 损伤和修复的机理, 从而合成出对某些与基因突变有关疾病的治疗药物。(4) 用作核酸的光裂解试剂和足迹试剂, 从而实现了对 DNA 的某些位点的特异性剪切, 即化学核酸酶。这里主要介绍其 DNA 分子探针, DNA 分子光开关和抗癌

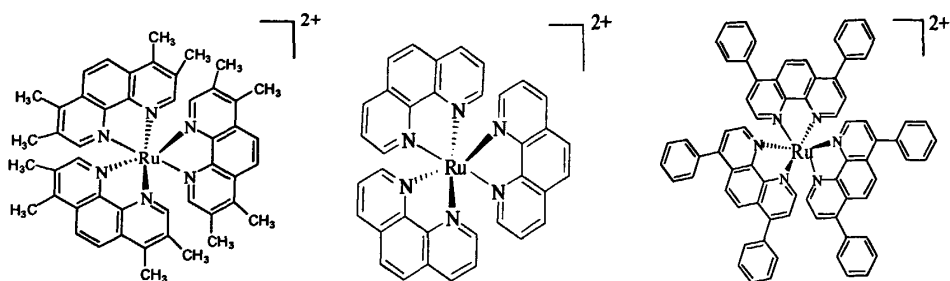
药的应用。

**DNA 结构探针** 钌多吡啶配合物多吡啶配合物具有  $\Delta$  和  $\Lambda$  两种构型，与具有手性的 DNA 的相互作用时存在着体选择，能够识别 DNA 的二级结构，因此可以作为 DNA 的结构探针。1982 年，Barton 通过  $\text{Zn}(\text{phen})_3^{2+}$  (phen 表示 1, 10-邻菲咯啉)与小牛胸腺 DNA (CT-DNA) 相互作用的研究，表明有一种手性金属配合物可优先与 CT-DNA 结合，并证实  $\text{Zn}(\text{phen})_3^{2+}$  是以插入方式与 DNA 结合的， $\text{Zn}(\text{phen})_3^{2+}$  因此而被认为是第一个具有立体选择性的 DNA 插入试剂<sup>[40]</sup>。由此，在生物无机化学方面开辟了用金属配合物作为 DNA 结构探针的新的研究领域。继而在研究金属配合物与 DNA 作用时发现  $\text{Zn}^{2+}$ ， $\text{Co}^{3+}$ ， $\text{Ru}^{2+}$  等配位饱和的八面体手性配合物具有识别 DNA 二级结构的能力，从而发展了能识别 A、B、和 Z 型 DNA 的手性配合物探针<sup>[40-43]</sup>。

例如，A-DNA 的特点在于它的小沟浅而宽， $[\text{Ru}(\text{tmp})_3]^{2+}$  (tmp = 3,4,7,8-四甲基邻菲咯啉)因为四甲基取代的邻菲咯啉增加了配合物的疏水性，因而也增加了  $[\text{Ru}(\text{tmp})_3]^{2+}$  的面式结合能力，而可以作为 A-DNA 结构探针。

B-DNA 的特点是存在一定的空间位阻效应， $[\text{Ru}(\text{phen})_3]^{2+}$  与 B-DNA 作用时，由于手性匹配其  $\Delta$ -异构体与之作用较强，而  $\Lambda$ -异构体与之作用却不如  $\Delta$ -异构体。电子吸收光谱出现明显的减色而在相同条件下  $\Delta$  型异构体比  $\Lambda$  型荧光增强更大，与 B-DNA 的结合力也更大，可以作为 B-DNA 结构探针。

由于 Z-DNA 的大沟又浅又平，对于手性识别并不是一个好的模版，而且 Z-DNA 结构较硬，碱基对重叠受限，不利于插入的进行。实验表明  $[\Delta\text{-Ru}(\text{dip})_3]^{2+}$  中，其 4,7 二苯基邻菲咯啉的两个苯基可扭转成与 phen 同一平面而插入 B-DNA 的碱基中，而由于苯环的空间位阻效应，另一对映体  $[\Lambda\text{-Ru}(\text{dip})_3]^{2+}$  几乎不与 B-DNA 作用，这样大大增强了其手性区分。当与 Z-DNA 作用时，Z-DNA 又平又浅的沟使两种异构体都有较强的结合。因此， $[\Lambda\text{-Ru}(\text{dip})_3]^{2+}$  能敏感地区分两种不同手性的 B-DNA 和 Z-DNA，从而使其成为 Z-DNA 的敏感探针。


 图 1-8 配合物 $[\text{Ru}(\text{tmp})_3]^{2+}$ ,  $[\text{Ru}(\text{phen})_3]^{2+}$  和  $[\text{Ru}(\text{dip})_3]^{2+}$ 的结构图

DNA 分子结构的信息非常丰富而复杂,即使同一构象的 DNA,其碱基序列可能不同,因此其大小沟的微环境也可能极不相同。钌多吡啶配合物具有结构的多样性,因此成为探测不同碱基序列的最有效的试剂之一,进一步推动了金属配合物与 DNA 作用机理的深入研究。

**DNA 分子光开关** 所谓分子开关,是泛指结构上组织化了的具有“开/关”功能的化学体系。根据分子开关的功能和用途,可以把它分为磁性分子开关、荧光分子开关、逻辑分子开关、特性功能分子开关等<sup>[44]</sup>。各种具有储存信息、转移信息等功能的新型超分子开关,将成为分子计算机的分子器件的重要部件,在动脉硬化、癌、减肥方面的应用和智能化的生物传感器,以及在光学控制、环境分析、显微技术等领域都会得到了广泛的应用和发展。而通过具有控制荧光效率的有机基因的化学变化来达到实现分子开关的目的的荧光分子开关,具有高的灵敏度,而且在荧光传感测量中,对样品不具破坏性,易于检测,可研制成智能化的生物传感器。世界发达国家更是纷纷把开发研究信息工程和生物工程的分子器件材料列入高新技术领域的重点发展对象。

Ru(II)多吡啶配合物的金属到配体的电荷转移跃迁 (MLCT) 激发态寿命长,这些配合物与 DNA 具有较强的结合力,在水溶液中几乎不发光,但加入 DNA 后产生极强的荧光,可作为 DNA 的分子光开关。著名的 DNA 分子光开关 Ru(II) 配合物  $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dppz})]^{2+}$  和  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$  (  $\text{dppz} = \text{dipyrido}[3,2\text{-}a:2',3'\text{-}c]\text{phenazine}$ ), 与 DNA 结合力强,它们在水溶液中没有荧光,当加入双链 DNA 后产生很强的发光,因此它们可作为 DNA 的分子光开关。Barton 认为,在 DNA 溶液中,它们与 DNA 发生经典插入作用而使其荧光免受淬灭,

与结合前相比, 荧光增强  $10^4$  倍, 可作为 DNA 的分子光开关<sup>[5, 43, 45-49]</sup>。现在普遍认为由于在 dppz 上含有两个未配位的 N 原子, N 原子容易与水分子发生质子转移反应, 从而导致  $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dppz})]^{2+}$  和  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$  荧光淬灭, 因而在水溶液中不发射荧光。但在有机介质、胶体、或 DNA 中产生很强的荧光。

而对于  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{phehat})]^{2+}$  来说, 室温下其水溶液没有可被检测到的荧光。因为 Ru - phehat 的 MLCT 激发态容易与溶剂分子  $\text{H}_2\text{O}$  之间作用以非辐射的方式而失活。而当 phehat 插入到 DNA 的碱基对中时, 受到了 DNA 的疏水环境的保护, 延长了激发态的寿命, 因而显示出非常强的荧光。这就显示了“光开关”的“开启”效果。

除上面提到的配合物以外,  $[\text{Ru}(\text{phen})(\text{dicnq})]^{2+}$ ,  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{phehat})]^{2+}$ ,  $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{hnoip})]^{2+}$ ,  $[\text{Ru}(\text{pztp})_2(\text{bpy})]^{2+}$  和  $[\text{Ru}(\text{pztp})_2(\text{phen})]^{2+}$  <sup>[50-53]</sup> 也具有明显的 DNA 分子光开关效应, 如图 1-9 所示。

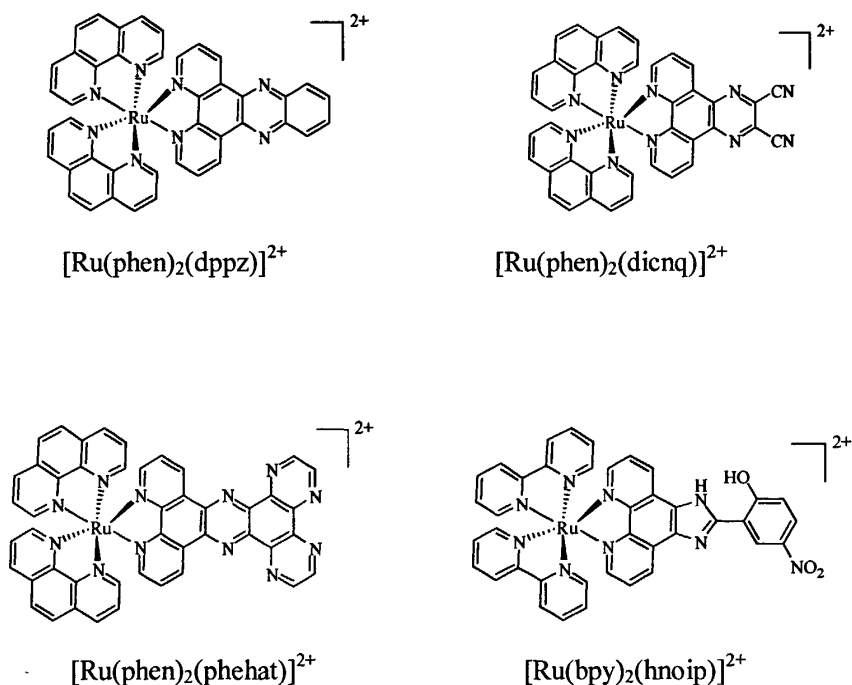


图 1-9 分子“光开关”钌(II)配合物的结构示意图

**抗癌药物** 1984 年意大利化学家 Giovanni Mestroni 和他的合作者首次发现 cis

和  $\text{trans RuCl}_2(\text{DMSO})_4$  对几种鼠类转移性肿瘤具有抗赘瘤生长的性质<sup>[54]</sup>, 从而开发了一类新型抗肿瘤试剂。近年来, 非铂类金属抗癌药物的研究非常活跃, 钌多吡啶配合物受到极大的关注, 被认为是最具有前途的抗癌药物之一。人们普遍认为: (1) 钌配合物毒性低, 易被肿瘤细胞所吸收。(2) 由于合成技术和方法的成熟, 人们可以按照预定的结构合成稳定的目标产物。(3) 可以很方便地通过配体的改变, 来调节与靶向分子间的亲和力, 电子转移方向, 取代反应速率和还原电位, 实现光电的活化。(4) 据报道, 第一代的钌的化合物作为抗癌药于 1999 年 10 月已进入临床试验阶段。作为第二代的二核钌(III)二甲亚砷配合物  $\text{Na}_2[\{\text{trans-RuCl}_4(\text{Me}_2\text{SO})\}(\mu\text{-L})]$  (L 为杂环氮桥连配体) 的活性又比第一代要高出 3.5 倍<sup>[55]</sup>。随着钌多吡啶配合物的生物化学研究的不断深入, 有望设计出对癌细胞定向识别的抗癌药物。

### 1.3.3 Ru(II)配合物和 DNA 作用的理论现状

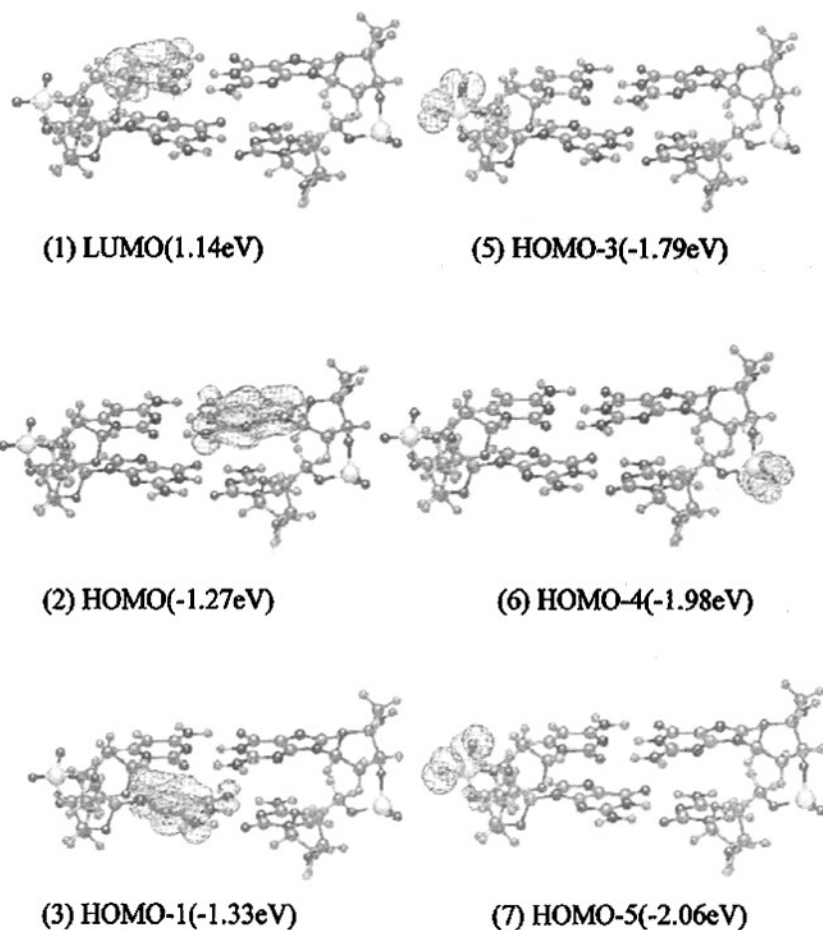
近年来, 对过渡金属配合物的理论研究越来越多, 特别是采用密度泛函方法 (DFT) 对配合物进行量化计算<sup>[56-61]</sup>。DFT 方法则能够考虑到配合物中与电子相关的能量因素, 同时又大大简化计算、减少计算时间, 所以逐渐被广泛运用于钌多吡啶类配合物的理论计算研究<sup>[62-74]</sup>。

但是在目前的条件下, 对完整的 DNA 分子及其与配合物相互作用的超分子体系进行严格的量子化学计算还在不断探索努力之中, 因此, 分别对 DNA 及过渡金属配合物进行量化计算, 得到它们各自的前沿分子轨道组成、能量及电荷分布等信息, 有助于从理论上探讨配合物与 DNA 的键合倾向或规律。

而日本学者 Kurita 和 Kobayashi 采用 DFT 方法对带骨架堆积碱基对模型 (CG/CG) 进行了计算<sup>[75]</sup>, 结果显示 HOMO 及其附近的占据轨道的能量相当高, 而且其轨道组成主要分别在碱基对上, 如图 1-10, 所以, DNA 碱基对是很好的电子给体。Rillema 等人曾用 DFT 方法对二环亚胺钌配合物阳离子进行计算, HOMO 和 LUMO 的贡献表明, 最低能量跃迁来自于金属离子向配体的电荷跃迁, 而配合物的 LUMO 轨道主要分布在配体上<sup>[76]</sup>。Reha 和 Hobza 等观察前线轨道的



能量发现, 它们的插入配体, 如二环亚胺等, 它们的 LUMO 能量普遍偏负, 所以是很好的电子接受体<sup>[77]</sup>。我们知道, 在插入模式的 DNA-配合物的键合中, 存在着  $\pi$ - $\pi$  相互作用, 当两个分子相互作用受到轨道控制时, 起主要作用的是两个分子的前线轨道。具有较高 HOMO 能量的分子与具有较低 LUMO 能量的分子容易相互作用, 电子容易从一个反应物分子的 HOMO 向另一个分子的 LUMO 转移<sup>[78, 79]</sup>。



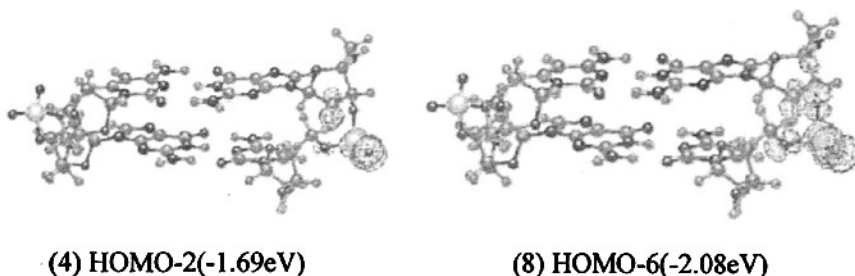


图 1-10 日本学者 Kurita 和 Kobayashi 计算的带骨架的 DNA 碱基对模型前沿轨道立体图

杨频等人采用分子力学 (MM2) 方法, 研究了金属配合物  $\Delta, \Lambda$ -[Co(phen)<sub>2</sub>(dppz)]<sup>3+</sup> 对正常序列 B-DNA d(GTCGATCGAC)<sub>2</sub> 的识别作用<sup>[80, 81]</sup>, 以及  $\Delta, \Lambda$ -[Co(phen)<sub>2</sub>tpphz]<sup>3+</sup> 对 B-DNA d(GTCGATCGAC)<sub>2</sub> 的识别作用<sup>[82]</sup>。并在 ESFF(Extensible Systematic Force Field) 力场下对整个作用过程中的体系势能进行分子力学计算, 分析了手性金属配合物  $\Delta, \Lambda$ -[Ru(phen)<sub>2</sub>(dppz)]<sup>2+</sup> 对错配 DNA d(CCGAATGAGG)<sub>2</sub> 的识别机理<sup>[83, 84]</sup>。主要考察了  $\Delta, \Lambda$ -[Ru(phen)<sub>2</sub>(dppz)]<sup>2+</sup> 对错配 DNA d(CCGAATGAGG)<sub>2</sub> 的识别作用, 并且将其与  $\Delta, \Lambda$ -[Co(phen)<sub>2</sub>(dppz)]<sup>3+</sup> 对正常序列 DNA 的识别作用进行对比, 发现  $\Delta, \Lambda$ -[Ru(phen)<sub>2</sub>(dppz)]<sup>2+</sup> 优先从小沟键合, 对错配 DNA 中的错配区域的识别作用要比对正常序列 DNA 识别作用的更具特异性, 并且倾向于识别错配碱基对。 $\Delta, \Lambda$ -[Ru(phen)<sub>2</sub>(dppz)]<sup>2+</sup> 配合物对错配区域的识别更具特异性, 导致这种结果的原因是金属核心不同还是碱基对结构不同的结果, 尚需进一步探讨。杨频等人在 2007 年采用分子力学方法模拟了手性金属配合物  $\Delta, \Lambda$ -[Ru(IP)<sub>2</sub>(dppz)]<sup>2+</sup> 对含 G:T 错配的 CPD 双螺旋 DNA 的识别作用。模拟结果显示: 金属配合物  $\Delta, \Lambda$ -[Ru(IP)<sub>2</sub>(dppz)]<sup>2+</sup> 的两个手性异构体都对含 G:T 错配的 CPD 双螺旋 DNA 具有识别作用, 识别的过程体现了很强的手性选择性、沟选择性和位点特异性。同时发现: 在  $\Delta, \Lambda$ -[Ru(IP)<sub>2</sub>(dppz)]<sup>2+</sup> 插入到 CPD 后, 形成 CPD 的两个 T 碱基由原来的敞口形状部分地转为近平行状, 使其在构型上得到初步的修复<sup>[85]</sup>。

## 1.4 课题的选择与研究方案

过渡金属钉多吡啶类配合物, 由于具有独特的 DNA 键合能力、良好的电化学、光化学、光物理性能和丰富的谱学性质, 在 DNA 分子光开关、DNA 结构探

针、DNA 介导的电荷转移、DNA 足迹试剂、DNA 断裂试剂及抗癌药等方面有着广泛的应用,在国际生物无机化学、理论化学及化学物理等学科与交叉学科中引起了巨大关注,成为十分活跃的前沿与交叉研究领域。近十多年来,对于分子开关型钌配合物与 DNA 作用的机制的研究,一直都是实验与理论研究的热点和难点,它具有非常广阔的研究空间和发展前景。因此,对分子开关型钌配合物的电子结构、DNA 键合、光谱性质及调控作用的量子化学研究对于这类配合物的功能分子设计,以及对光化、生化等作用机理分析是一项很有意义的理论研究工作。

以近年来国内外文献报道的大量实验结果,特别是本院生物无机化学组钌(II)多吡啶类配合物大量实验研究为背景,采用国际上先进的密度泛函(DFT),结合分子力学(MM2)和分子对接(Docking)的方法,对有重要应用前景的一系列钌多吡啶类配合物的电子与几何结构、DNA 键合倾向、大小沟插入选择性、碱基对识别规律、各个碱基对位点的结合能量以及作用构象进行理论计算研究。研究内容有两个大方面:(1)选用适当的钌(II)多吡啶类配合物分子探针,模拟了钌(II)多吡啶类配合物分子探针与错配 DNA 的整体模型,用分子力学(MM2)、量子化学(DFT)和分子对接(Docking)相结合的方法研究其与错配 DNA 的作用规律。探讨钌(II)多吡啶类配合物分子探针对错配 DNA 的大小沟插入选择性、碱基对识别规律、各个碱基对位点的结合能量以及作用构象。(2)在钌(II)多吡啶类配合物分子探针特异识别的碱基对位点,研究一系列钌(II)多吡啶类配合物的大小沟插入选择性、结合能量和作用构象,并进一步研究该系列配合物的手性异构、取代基的不同位置和分子内氢键对错配 DNA 键合性质的影响。该课题研究结果可为该类配合物的功能分子设计、合成、配合物与 DNA 的作用机理分析、有关性质及作用机理分析提供重要的理论指导,具有重要的学术价值、理论意义和应用前景。

## 第 2 章 理论基础与计算方法

### 2.1 引言

随着化学理论研究日益成熟,计算机软硬件技术突飞猛进的发展,广大化学家们越来越重视使用理论计算方法来研究化学问题。1998年, Kohn 和 Pople 被授予诺贝尔化学奖,以表彰他们在使用量子化学理论和计算方法来计算小分子和中等大小分子的各种性质方面所做出的杰出贡献。这都预示着化学新时代的到来,理论与计算化学将在各个领域得到应用,实验和理论更加密切地结合,从而能够深入探讨分子体系的性质。进行计算的理论基础主要有量子化学理论和分子力学理论<sup>[86,87]</sup>。

### 2.2 量子化学的发展及研究方法

量子化学<sup>[88-91]</sup>是应用量子力学的基本原理和方法,研究原子、分子和晶体的电子层结构、化学键理论、分子间作用力、化学反应机理、各种光谱、波谱和电子能谱、以及无机和有机化合物、生物大分子和各种功能材料的结构与性能关系等化学问题的一门基础科学<sup>[88]</sup>。1900年 Plank 提出量子论,这标志着量子力学的诞生。1926年 E. Schrödinger 成功地解决了量子态 $\psi(\vec{r},t)$ 及各种情况下求波函数的问题,提出了著名的 Schrödinger 方程。1927年 W. Heitler 和 F. W. London 用量子力学基本原理讨论氢分子结构问题,说明了两个氢原子能够结合成一个稳定的氢分子的原因,并且利用相当近似的计算方法,算出其结合能,从而提出电子配对成键的概念,为创立价键理论打下了基础。由此,使人们认识到可以用量子力学原理讨论分子结构问题,从而逐渐形成了量子化学这一分支学科。

量子化学的研究范围包括稳定和不稳定分子的结构、性能,及其结构与性能之间的关系;分子与分子之间的相互作用;分子与分子之间的相互碰撞和相互反应等问题。量子化学又可分基础研究和应用研究两大类,基础研究主要是寻求量子化学中的自身规律,建立量子化学的多体方法和计算方法等,多体方法包括化学键理论、密度矩阵理论和传播子理论,以及多级微扰理论、群论和图论在量子

化学中的应用等。应用研究是利用量子化学方法处理化学问题，用量子化学的结果解释化学现象。当前国际上关心的量子化学“基础理论”问题主要包括：对称性理论；多体理论；散射理论；路径积分与传播子理论等。量子化学的研究为化学的各个分支，为材料研制，能源，环境及生命科学提供大量有价值的信息，与实验研究相互补充，并其它化学分支学科的直接应用和渗透，并建立了一些边缘学科，主要有量子有机化学、量子无机化学、量子生物和药物化学、表面吸附和催化中的量子理论、分子间相互作用的量子化学理论和分子反应动态学，量子化学在其它化学分支学科的研究方面将发挥更大的作用，如催化与表面化学、原子簇化学、分子动态学、生物与药物大分子化学等方面。

量子化学主要的四大方法是：从头计算法，后 H-F 方法（组态相互作用，多级微扰法），近似方法（如 CNDO，INDO）和密度泛函（DFT）等方法，这里先简介前面三种量子化学方法，而 DFT 方法作为量子化学的最新进展在 1.3 节中专门介绍。

### 2.2.1 从头计算法

所谓的从头算 (*ab initio*)<sup>[89, 92-94]</sup>就是只要给出初始的结构，不需要任何的实验参数就可以开始进行计算。它基于以下三个基本近似来求解 Schrödinger 方程：

- (1) 非相对论近似：认为电子质量等于其静止质量，并认为光速接近无穷大。
- (2) Born-Oppenheimer 近似（绝热近似）：将核运动和电子运动分开处理。
- (3) 轨道近似（单电子波函数近似）：体系总的电子波函数等于各单电子波函数的乘积。

Schrödinger 方程在引入三个近似后的具体表达形式为 Hartree-Fock-Roothaan（简称 HFR）方程。HFR 方程是分子轨道法的核心。它经历了 Hartree 方程到 Hartree-Fock 方程到最后到 HFR 的演变过程。

1928 年 Hartree 提出了一个将 N 个电子体系中的每一个电子都看成是在由其余的 N-1 个电子所提供的平均势场中运动的假设。这样对于体系中的每一个电子都得到了一个单电子方程（表示这个电子运动状态的量子力学方程），称为 Hartree 方程。使用自洽场迭代方式求解这个方程，就可得到体系的电子结构和

性质。但是 Hartree 方程未考虑由于电子自旋而需要遵守的泡利原理。1930 年, Fock 和 Slater 分别提出了考虑泡利原理的自洽场迭代方程, 称为 Hartree-Fock 方程 (如用于闭壳层分子的方程(2-1))。它将单电子轨道函数(即分子轨道)取为自旋轨道函数 (即电子的空间函数与自旋函数的乘积)。按照泡利原理的要求, 体系的总电子波函数要满足反对称化要求, 即对于体系的任何两个粒子的坐标的交换都使总电子波函数改变正负号, 而 Slater 行列式波函数正是满足反对称化要求的波函数。

$$[\hat{h}^N + \sum_j (2\hat{J}_j - \hat{K}_j)]\psi = \varepsilon^{scf}\psi, \text{ or,} \quad j: 1, 2, \dots, n \text{ (} n \text{ 为占据的分子轨道数)} \quad (2-1)$$

$$\hat{F}^{scf}\psi = \varepsilon^{scf}\psi$$

由于利用 Hartree-Fock 方程很难用于计算多原子分子。所以 Roothaan 提出将分子轨道向组成分子的原子轨道 (简称 AO) 展开 (见方程(2-2)), 这样的分子轨道称为原子轨道的线性组合 (简称 LCAO)。使用 LCAO-MO, 原来积分微分形式的 Hartree-Fock 方程就变为易于求解的代数方程, 即为 Hartree-Fock-Roothaan 方程, 简称 HFR 方程 (见方程(2-3))。

$$\psi_i = \sum_v c_{iv} \phi_v \quad (2-2)$$

$$\sum_v c_{iv} (F_{uv} - \varepsilon_i^{scf} S_{uv}) = 0, u, v: 1, 2, \dots, n \text{ (} n \text{ 为原子轨道数)} \quad (2-3)$$

**RHF 方程** 闭壳层体系是指体系中所有的电子均按自旋相反的方式配对充满某些壳层 (壳层指能量相同或简并的一组分子轨道)。这种体系的特点是可可用单 Slater 行列式表示多电子波函数 (分子的电子组态), 描述这种体系的 HFR 方程称为限制性的 HFR 方程 (简称 RHF 方程), 所谓限制性, 即要求每一对自旋相反的电子具有相同的空间波函数。

**UHF 方程** 开壳层体系是指体系中有未成对的电子。描述开壳层体系的波函数一般应取 Slater 行列式的线性组合, 计算方案比较复杂。然而对于开壳层体系具有较大多重度的状态来说, 可以保持波函数的单 Slater 行列式形式。描述这类体系的最常用的方法是假设自旋向上的电子 ( $\alpha$  自旋) 和自旋向下的电子 ( $\beta$  自旋) 所处的分子轨道不同, 即不限制自旋相反的同一对电子填入相同的分子轨道。这样得到的 HFR 方程称为非限制性的 HFR 方程 (简称 UHF 方程)。

HFR 方程可以计算任意多原子体系的电子结构和性质。Hartree-Fock 方法对

于稳定的分子和一些过渡金属化合物的处理能够得到相当好的结果,该方法已经可以解决很多问题。HF 方法的不足之处就是忽略了电子库仑相关效应,对于一些能量精度要求较高的计算体系,它的缺点就显露出来了。

### 2.2.2 后 H-F 法

后 H-F 方法考虑了电子相关效应,主要包括:(1)多级微扰法(MPn);(2)组态相互作用法(CI);

**多级微扰法** 即 MPn,是将多电子体系电子间的相互作用看做是体系哈密顿算符的微扰项,应用微扰理论进行处理,MPn 表示的是多体微扰 n 级近似。在密度泛函方法得到广泛应用之前,MP2 方法是考虑电子相关的最便宜的方法,它可以成功应用于很多领域,一般都能得到很精确的结果,是理论化学中非常有力的工具。当然,MP2 也有不能应用的体系。

在 MP2 不能得到好的结果的时候,就可以使用高等级的 MP 方法,在实践上,只有 MP4 得到比较广泛的应用。MP3 对于 MP2 处理不好的体系一般也没有好的结果。基于与 MP3 同样的原因,MP5 也很少被使用。虽然 MP4 比 MP2 昂贵很多,但在 MP2 所不能解决的问题方面,的确能得到很精确的结果。

**组态相互作用法** UHF 方程考虑了相关能的一小部分,更精密的作法则须取多个 Slater 行列式的线性组合形式的波函数,由变分法求得这些 Slater 行列式的组合系数。每一个 Slater 行列式所描述的分子的电子结构称为组态,体系的波函数由多个组态即多个 Slater 行列式波函数线性组合的方法称为组态相互作用法(简称 CI)。

组态相互作用需将线性变分原理用于求各组态(Slater 行列式)的线性组合的试探函数,而这些行列式展开来又是具有反对称的单电子波函数(分子轨道)的乘积波函数的线性组合,同时,分子轨道需由原子轨道(或其它基函)线性组合得到。因此,组态相互作用法计算工作量相当巨大,除了迭代收敛上的困难外,需要考虑原子基组、分子轨道和组态函数(简称 CF)的选择。由于对分子轨道和 CF 有不同的选择,所以有不同的组态相互作用等级。同时优化分子轨道和组态函数的组合系数的方法称为多组态自洽场法(简称 MCSCF 法)。组态相互作用法和多组态自洽场法在激发态几何与电子结构、原子与分子光谱、以及精确的热

力学、动力学性质的计算研究上是非常重要的。

### 2.2.3 近似方法

**半经验近似计算方法** 即使是对于单行列式的 RHF 和 UHF 方程的从头计算方法, 计算工作量也是惊人的, 主要的困难是 RHF 和 UHF 方程中的电子间排斥积分的计算, 这些排斥积分由于数目多、中心多 (2-4 个原子中心) 而计算十分冗长而繁琐。因此, 提出不同层次的简化排斥积分的计算方案, 称为近似计算方法。近似的 RHF 方程和 UHF 方程一般得到的结果较差。取一些经验参量代替近似 RHF 和 UHF 方程中的一些积分, 同时忽略某些积分, 则可得到令人满意的结果。这种方法称为半经验近似计算方法。

在半经验计算方法中, 采取一些不同层次的近似方法忽略掉全部三中心积分、四中心积分和适当考虑单中心和双中心积分。由于没有多中心积分的计算困难, 所以半经验近似自洽场方法的原子轨道基组一般都取 Slater 型的原子轨道。目前最常用的近似是零微分重叠 (简称 ZDO) 近似, 即假定某些原子基之间的重叠为零。半经验近似自洽场方法通常有 CNDO(全略微分重叠), INDO(间略微分重叠), MINDO(改进的间略微分重叠), MNDO(改进的微弱分重叠), AM1 和 PM3 等。

### 2.2.4 密度泛函理论 (DFT)

密度泛函理论 (DFT) [86,95-97] 方法就是以体系的电子密度为变量的方法, 即体系 (原子、分子和泛分子中的电子) 的状态可以用电子密度函数来描述, 电子密度是体系最基本的变量, 决定着体系的所有性质。此概念最初是由 Thomas-Fermi 提出来的。随后, Hohenberg-Kohn 定理证明了 external potential 和多电子体系的基态都是电子密度的唯一泛函。

在 H-F 定理基础上, Kohn 和 Sham 引入了“无相互作用参考系统”的概念, 这个思想和传统的从头算不同, 我们推导的 HF 方程是建立在真实系统基础上的, 而无相互作用参考系统是不存在的, 只是 KS 为计算真实体系而设立的一个参照系统, 它和真实系统的联系就在于有相同的电子密度。这个无相互作用系统中,



粒子间无相互作用，它的哈密顿算符就只有两项，动能算符和势能算符，这个形式比 HF 形式简单的多，同 HF 方程一样，根据单电子近似也得到了 KS 单电子算符。HF 方法完全忽略了相关能的计算，在 DFT 中，考虑了电子相关能，因此从原理上讲，Kohn-Sham 方法是严格的，未作任何近似，但是同交换相关能相联系的交换相关势的形式却是无法确定的，因此 DFT 的中心问题是寻找更好的泛函形式。

从二十世纪六十年代密度泛函理论提出，并在局域密度近似 (LDA) 导出著名的 Kohn-Sham 方程以来，DFT 已经成为很多领域电子结构计算的有力工具，最近几年，DFT 方法得到了广泛的应用。好的 DFT 方法可以得到比 HF 法精确的解，且精度可与 MP2 方法相比，但仅使用中等程度的价格，对于中型、大型体系，价格远低于 MP2 方法。

DFT 方法通过泛函来计算电子相关，其将电子能量分为几个部分，动能 ( $T(\rho)$ )，电子-核相互作用 ( $V_{ne}(\rho)$ )，库仑排斥 ( $V_{ee}(\rho)$ ) (包括交换相关项，而该项又可分为交换和相关项)，以及核间相互作用项 ( $V_{nn}$ )，如方程 2-4 所示。

$$E(\rho) = T(\rho) + V_{ne}(\rho) + V_{ee}(\rho) + V_{nn} \quad (2-4)$$

目前有大量的泛函，一般根据其处理相关和交换项的方法分类。局域交换和相关项只包括电子自旋密度的值，Slater 和 Xalpha 泛函是著名的局域交换泛函，VWN 方法是广泛应用的局域泛函方法。梯度修正泛函包含了电子自旋密度及其梯度，其中的一些泛函也被称为非局域泛函。最普遍应用的梯度修正交换泛函是 1988 年 Becke 提出的泛函，最广泛应用的梯度修正相关泛函是 Lee, Yang, Parr 提出的 LYP 泛函。这两个方法的结合，就是 Gaussian 中的 BLYP 方法。Perdew 也提出了重要的混合泛函，如 Perdew86 和 perdew-Wang 91。混合泛函将交换泛函定义为 Hartree-Fock 局域和梯度修正交换项的线性组合，这样得到的泛函就是局域和非局域泛函的组合，Gaussian 提供的最有名的方法是 B3LYP 和 B3PW91。最近，厦门大学的徐昕等在 B3LYP 泛函的基础上提出了 X3LYP, XPBE 等新的泛函，并成功地应用在非键相互作用的理论研究中<sup>[98-105]</sup>。密度泛函理论 (DFT) 在自洽场 Kohn-Sham 程序中通过电子密度泛函弥补了电子相关效应，并且给予常用的从头算法来精密处理其电子相关效应的需要体系以很好的描述。小分子有机体系的振动光谱的密度泛函理论计算已给出了与实验较一致的结果。有关过渡金

属配合物的从头计算 (*Ab initio*) 考虑电子相关效应的密度泛函 (DFT) 等方法的计算已不断增加, 特别是近几年来, 用密度泛函法进行较大体系的第二、三过渡金属配合物的电子结构、基态和激发态性质以及谱学性质 (UV、IR、NMR 等) 的计算正在增加, 它将与计算机的发展相结合, 成为当前理论化学研究的主流和前沿领域<sup>[106-109]</sup>。近年来, 随着计算机技术与量子化学软件的快速发展, 高等级的计算方法逐渐被采用, 主要以密度泛函法为主, 对过渡金属配合物的计算研究<sup>[110-116]</sup>也明显增多。过去几年, 我们课题组以国内外文献报道的大量实验结果为背景, 采用密度泛函法对过渡金属多吡啶类配合物进行计算, 研究其电子结构及相关性质<sup>[117-129]</sup>。

量子化学计算研究, 可从电子结构水平上揭示物质及其相互作用的本质。由于计算机硬、软件的限制, 对于 DNA 整体分子的电子结构进行严格的量子化学计算, 目前比较困难。近 20 多年来, 有关对对单一碱基 (对) 组成的多聚核苷酸的周期性边界条件下的从头计算和非周期边界条件下的 DNA 分子作了态密度的从头计算, 均有报道。1995 年, 我国著名量化学家唐敖庆等在国产的大型高速并行计算机 (曙光 1000) 上实现了首例对天然存在的 DNA 分子片段的整体电子结构的从头计算和电导率的理论计算, 并研究了 DNA 分子传输电子的跃迁机理<sup>[130]</sup>。2000 年日本学者 Kurita 和 Kobayashi 设计了碱基对模型, 使用 DFT 方法对带骨架堆积碱基对模型(CG/CG)进行了计算, 得到了该模型的前线轨道, 并指出 PO<sub>4</sub> 在 DNA 的反应中起了重要作用<sup>[75]</sup>。

DFT 方法越来越受到人们的欢迎, 已经成功的应用在分子的结构与性质、光谱、能谱、热化学、反应机理、过渡态等涉及化学、物理、生物、环境等众多研究领域。

## 2.3 分子力学理论

分子力学理论<sup>[79, 131-133]</sup>认为孤立分子或相互作用的体系的势能函数是分子或体系中原子位置的函数。力场的势能包括非键和价键的相互作用 (由不同的势能函数表示), 所有势能的总和即为分子的构象能。一套势能函数是由一系列的可调参数 (称为力场) 组成的。对可调参数进行优化, 是其计算值与分子的各种

性质的最佳拟合, 获得一套力场的优化参数, 再用这些参数去预测其他分子的结构和性质, 这一过程称为力场的参数化。分子力学的关键是如何准确表达力场。分子动力学求解的是经典力学方程, 即牛顿方程, 得到的是分子的平衡结构、热力学等性质。

通过量子化学计算在原则上可以得到分子的电子结构与相关性质, 得到优化的几何构象, 得到重要的化学与物理性质, 但是目前对于较大的分子体系的精确计算尚比较困难, 使其应用受到限制。分子力学和分子动力学的计算则弥补了量子化学计算在大分子计算设计上的不足, 它们可以高速地计算很大的分子体系, 进行分子力场的几何优化, 从而建立粗略的分子模型。分子力学的基础是基于如下假设: 分子是由原子组成的, 所以孤立分子或相互作用的体系的势能函数是分子或者体系中原子位置的函数。分子力学的基本思想最早可以追溯到 1930 年的 Andrews D. H. 提出的经典力学模型。力场的势能包括非键和价键的相互作用(由不同的势能函数表示), 所有势能的总和即为分子的构象能。分子动力学将分子或体系作为在势能面上运动的力学体系来处理, 与量子力学不同, 它求解的是经典力学方程, 即牛顿方程, 不是薛定谔方程, 所以分子力学方法能获得分子的平衡结构、振动光谱、热力学性质等, 不能求的体系与电子结构有关的性质。

分子力学是基于分子经典力学的计算方法, 计算的基本依据是分子中原子之间的作用可以分解为化学键和非键 van der Waals 作用。计算的核心是构筑力场 (force field), 把分子处理成为一套由经典力学势能函数支配原子的排列。力场的势能包括非键和价键的互相作用 (由不同的势能函数表示), 所有势能的总和即为分子的构象能。一套势能函数是一系列的可调参数组成的。对可调参数进行优化, 是其计算值与分子的各种性质 (分子的几何构型、键长、键角、生成热等) 的最佳拟合, 获得一套力场的优化参数, 再用这些参数去预测其他分子的结构和性质, 这一过程称为力场的参数化。分子力学的关键是如何准确的表达力场, 现有很多套广为使用的力场方法: MM+, UFF, MM1 / MMP1, MM2 / MMP2, Amber, CVFF, Tripos, MM3, CHARMM, OPLS, ECEPP, Dreiding, Universal 等。

分子力学和量子化学都是研究分子结构的理论方法, 但二者存在着根本的差别。与量子化学不同, 分子力学一般不去考虑分子的电子结构, 而是在半经验势能函数的基础上直接处理分子中原子位置的问题。它的最大优点是计算速度快,

量子化学从头算的计算量随原子轨道数目的增加,按4次方的速度上升,而分子力学的计算量仅与原子数目的平方成正比。分子力学的概念简单,直观性强,适应于各种水平的科学研究。一些比较完善的分子力学力场的计算精确度已经超过了一些量子化学的处理精度。其次就是它的概念简明易于接受。分子力学中的总“能量”被分解成键的伸缩、键角弯曲、键的扭曲和非键作用等,比起量子化学计算中的Fock矩阵等概念来要直观易懂。分子力学的主要缺陷是:它是一种半经验的方法,其力场参数化在很大程度上偏离于实验数据,而力场是在大量的实验数据的基础上产生的。由于各自的特点不同,它们所适用的范围也不同。分子力学宜用于对大分子进行构像分析、研究与空间效应密切相关的有机反应机理、反应活性、有机物的稳定性及生物活性分子的构像与活性的关系,但是,当研究对象与所用的分子力学力场参数化基于的分子集合相差甚远时不宜使用,当然也不能用于人们感兴趣但没有足够多的实验数据的新类型的分子。对于化合物的电子结构、光谱性质、反应能力等涉及电子运动的研究,则应使用量子化学计算的方法。然而,在许多情况下,将量子化学计算和分子力学计算结合使用能取得较好的效果。分子力学计算结果可提供量子化学计算所需的分子构像坐标,而量子化学计算结果又给出了分子力学所不能给出的分子的电子性质。这使得它不能完全有把握处理目前还没有足够实验数据的新类型分子。此外,分子力学无法解释化学键的本质问题,对电子性质如轨道作用、电离能等无能为力。

分子力学与量子化学计算的显著区别就在于:(1)前者是经典模型,以原子为“粒子”,按经典力学运动,而量子化学则主要处理对象为电子,其运动服从量子力学规律;(2)量子化学中,粒子(电子或原子核)间的相互作用服从库仑定律(在分子尺度上是准确的),而分子力学中每对原子之间有一特定的作用势函数,原子不同或者原子虽然相同但所处环境不同,则势函数不同,即使对同一对原子,也无法给出准确的势函数。

## 2.4 分子对接

分子对接(Docking)是利用现有的蛋白质和药物分子复合物的晶体结构数据,计算把配体分子放在受体活性位点的位置,然后按照几何互补、能量互补以及化学环境互补的原则来评价药物和受体相互作用的好坏,并找出两个分子之间

最佳的结合模式。药物分子在产生药效的过程中，需要与靶酶相互结合，这就要求两个分子要充分接近并采取合适的取向以使二者在必要的部位相互契合，发生相互作用，继而通过适当的构象调整，得到一个稳定的复合物构象。通过分子对接确定复合物中两个分子正确的相对位置和取向，研究两个分子的构象特别是底物构象在形成复合物过程的变化是确定药物作用机制，设计新药的基础。

由于分子对接考虑了受体结构的信息以及受体和药物分子之间的相互作用信息，因此从原理上讲，它比仅仅从配体结构出发的药物设计方法更加合理。同时，分子对接筛选的化合物库<sup>[134]</sup>往往采用的是商用数据库<sup>[135, 136]</sup>，比如可用化合物数据库（ACD）、剑桥晶体结构数据库（CSD）、世界药物索引（WDL）、药用化合物数据库（CMC）以及可用化合物搜索数据库（ACDSC）等等，因此筛选出来的化合物都为已知化合物，而且相当大一部份可以通过购买得到，这为科研提供了很大的方便，近年来，随着计算机技术的发展、靶酶晶体结构的快速增长以及商用小分子数据库的不断更新，分子对接在药物设计中取得了巨大成功，已经成为基于结构药物分子设计中最为重要的方法。

#### 2.4.1 分子对接的原理

分子对接的原理最初思想源自于“锁和钥匙”的模型，即“一把钥匙开一把锁”。不过分子对接，也就是药物分子和靶酶分子间的识别要比“钥匙和锁”的模型要复杂的多。首先，这种复杂性表现在药物分子和靶酶分子是柔性的，这就要求在对接过程中要相互适应以达到最佳匹配；再者，分子对接不仅要满足空间形状的匹配，还要满足能量的匹配，底物分子与靶酶分子能否结合以及结合的程度最终是由形成此复合物过程的结合自由能的变化值决定。互补性和预组织是决定分子对接过程的两个重要原则，前者决定识别过程的选择性，而后者决定识别过程的键和能力。互补性包括空间结构的互补性和电学性质的互补性。受体和底物分子在识别之前将受体中容纳底物的环境组织得愈好，则它们的识别效果愈佳，形成的复合物越稳定，这就是分子识别的预组织原则。

## 2.4.2 分子对接的理论基础

分子对接方法通过将已知三维结构的小分子化合物放入靶标分子的结合位点,优化小分子化合物的位置、取向和构象,寻找小分子与靶标分子作用的最佳结合构象,计算其与靶标分子的相互作用能。如何确定对接分子间的结合强度涉及到底物分子和受体分子间结合能力的预测,牵涉到结合自由能的计算:

$$\Delta G^{\circ} = -RT \ln K_A \quad K_A = K_i^{-1} = \frac{[P][L]}{[PL]} \quad (2-5)$$

$K_A$  为结合常数 ( $K_i$  为解离常数),  $T$  是绝对温度,  $R$  为摩尔气体常数 ( $8.3145 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$ ), 实验上测得的结合常数  $K_A$  通常在  $10^{-2} \sim 10^{-12} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  范围内, 对应的 Gibbs 结合自由能为  $-10 \sim -70 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ 。在热力学平衡条件下, 反应的标准 Gibbs 自由能  $\Delta G^{\circ}_{bind}$ 、由焓变  $\Delta H^{\circ}$  和熵变 ( $T\Delta S^{\circ}$ ) 组成:

$$\Delta G^{\circ} = \Delta H^{\circ} - T\Delta S^{\circ} = G_{\text{complex}} - (G_{\text{receptor}} + G_{\text{ligand}}) \quad (2-6)$$

结合自由能包括以下几个方面的贡献:(1) 气态下受体分子和底物分子对接过程的自由能变化, 约为对接过程中的焓变;(2) 受体分子、底物分子以及复合物分子的溶剂化自由能对接过程中的熵变。在这几项中, 气态下分子对接过程的焓变可以通过分子力学的方法简单求算。自由能微扰 (Free Energy Perturbation, FEP) 和热力学积分 (Thermodynamic Integration, TI) 方法是当前结合自由能计算的最有效方法, 但计算时间花费太长。而在实际的药物设计过程中, 研究人员总是希望能快速筛选成千上万的分子。所以目前采用的是较为简单的自由能评价方法。根据所采用的力场的差异, 式中的氢键作用可以显式的表达, 也可以通过调整相应原子的范德华半径来处理, 或者被隐含地包括在静电作用能中。大部分的分子对接方法忽略了全部熵效应, 而在焓效应中也只考虑配体与受体的相互作用能。配体与受体的非键相互  $E_{\text{interaction}}$  作用包括电荷相互作用能  $E_{\text{ele}}$ 、范德华作用能  $E_{\text{vdw}}$ 、和氢键相互作用能  $E_{\text{H-bond}}$ :

$$E_{\text{interaction}} = E_{\text{ele}} + E_{\text{vdw}} + E_{\text{H-bond}} \quad (2-7)$$

### 2.4.3 分子对接的方法

自 80 年代提出第一个蛋白质-配体对接程序 DOCK 以来, 该领域得到了长足发展, 目前一些研究小组提出了各具特色的对接程序, 主要体现在对接过程中的构象搜索和分子柔性处理方面。Kuntz 等人的 DOCK 程序<sup>[137-140]</sup>是按柔性键将配体分子分为多个刚性片段, 然后用“锚优先搜索”的方法来考虑配体的柔性; Matthias Rarey 等开发的 FlexX 对接软件, 当配体的核心结构在活性口袋中的位置确定以后, 采用树形搜索方法在核心结构上依次“生长”配体分子中的其他片断; Accelrys 和杜邦公司联合开发的 Affinity 对接软件<sup>[140]</sup>, 虽然考虑了受体的柔性, 但范围非常局限, 只限于受体活性位点的某几个残基; GOLD 是一个自动对接程序, 它使用遗传算法来探索配体全范围的柔性构象和蛋白质的局部柔性, 使配体必须满足取代结合区松散的结合水的基本要求; Olson 等人充分考虑了配体的柔性, 设计了将柔性配体对接到受体分子上的 Autodock 程序<sup>[141]</sup>。

## 第 3 章 $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$ 分子探针与错配 DNA 的键合作用

### 3.1 引言

金属钌多吡啶配合物 $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$ 被认为是目前发光性能最好的 DNA “分子光开关”化合物之一，它在水溶液中没有表现出荧光或者荧光强度极弱，但是在加入 DNA 后便有强烈的荧光发出，可以作为水溶液中双链 DNA 敏感光谱开关<sup>[6, 46-48]</sup>。本章选用 $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$ 为分子探针，模拟 $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$ 与错配 DNA（十个碱基对模型）的整体模型，用分子力学（MM2）、量子化学（DFT）和分子对接(Docking)相结合的方法研究其与错配 DNA 的作用规律。

### 3.2 计算模型与方法

#### 3.2.1 分子力学模型

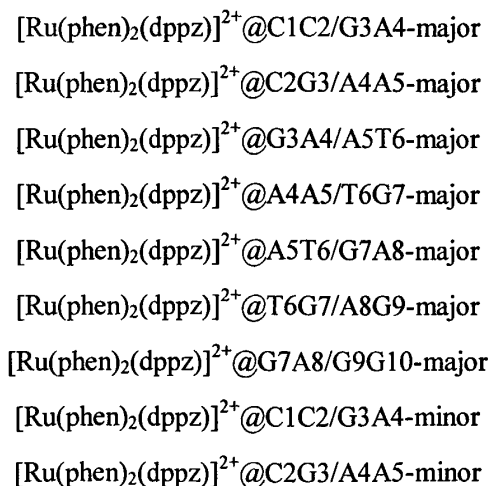
本文采用分子力学（MM2）方法建立错配 DNA 与 $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$ 键合的整体模型。错配 DNA 序列  $\text{d}(\text{CCGAATGAGG})_2$  从蛋白质结构数据库（Research Collaboratory for Structural Bioinformatics Protein Data Bank, RCSB PDB）获取并用 Chimera 程序处理<sup>[142]</sup>，建立模型时只保留 A 链和 B 链，并删除所有结晶水分子以及金属离子。配合物 $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$ 的结构从 DFT 计算结果中获取，在 B3LYP/Lan12DZ 水平上进行优化，无虚频，为合理构象。在模拟过程中，采用手动插入的方式建立错配 DNA-配合物的整体模型，并用共轭梯度法，对该整体模型进行优化直到 RMS 值小于 0.5Kcal/mol，此步骤的目的是为了搜寻错配 DNA-配合物的最佳相对位置<sup>[80, 81, 143]</sup>。找到错配 DNA-配合物的最佳相对位置后， $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$ 的主配体 dppz 平面与 DNA 碱基平面平行，且 dppz 平面与上下两个相邻碱基平面的距离相等。不改变 $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$ 的主配体 dppz 与上下两个相邻碱基平面的距离，且保持 dppz 平面与 DNA 碱基平面平行，调整

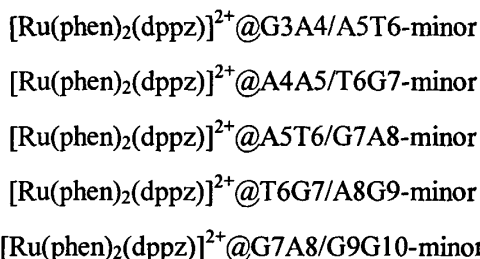


$[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$  和 DNA 螺旋的相对位置, 使得主配体 dppz 的前端刚好位于 DNA 碱基对边沿, 将该位置定义为 0。手动改变  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$  和 DNA 螺旋的相对位置, 使主配体 dppz 的前端进入 DNA 碱基内 1A, 将该位置定义为 1, 以相同方法定义位置 2、3 等其他位置, 直到主配体 dppz 完全插入到 DNA 碱基内。对每一个记录点的错配 DNA-配合物整体模型使用共轭梯度法进行优化, 直到 RMS 值小于 0.05Kcal/mol, 找到错配 DNA-配合物整体模型的最优构象。错配 DNA 序列 d(CCGAATGAGG)<sub>2</sub> 共有九个位点, 分别为 C1G2/C2G2, C2G2/G3A3, G3A3/A4G4, A4G4/A5T5, A5T5/T6A6, T6A6/G7A7, G7A7/A8G8, A8G8/G9C9, G9C9/G10C10, 考虑到末端效应, 未将 C1G2/C2G2 和 G9C9/G10C10 列入考察范围。在除末端外的其余七个位点, 模拟了  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$  分别从大沟和小沟插入 DNA 的分子力学模型。分子力学模拟工作使用 HyperChem 程序<sup>[144]</sup>完成, 除特殊指明外所有参数均默认值。

### 3.2.2 量子化学计算

从分子力学模拟结果中发现,  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$  键合到碱基堆积后, 距主配体 dppz 相邻最近的上下各四个碱基与配合物的作用较强, 其余碱基与  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$  的距离超过 6 Å, 作用较弱, 所以提取量子化学计算模型时, 只保留配合物  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$ 、与主配体 dppz 相邻最近的八个碱基, 以及这八个碱基的磷酸骨架。从分子力学模拟结果共提取了  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$  在除末端外的七个位点, 分别从大沟和小沟插入的 14 个模型, 分别为:





对上述 14 个模型, 采用 DFT 方法, 在 B3LYP/LanL2DZ 水平对以上配合物-DNA 模型进行精确能量计算以及自然轨道布居分析。并对未键合  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$  的 DNA 序列模型用相同的方法进行精确能量计算以及自然轨道布居分析, DNA 序列模型分别为 C1C2/G3A4, C2G3/A4A5, G3A4/A5T6, A4A5/T6G7, A5T6/G7A8, T6G7/A8G9, G7A8/G9G10。量子化学计算在 Linux 平台上用 Gaussian03 程序包<sup>[105]</sup>完成。

### 3.2.3 分子对接

分子对接的错配 DNA 受体模型从分子力学模拟结果中获得。错配 DNA 受体经过如下步骤处理: 删除分子力学模拟得到的整体模型中的  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$ , 重新定义错配 DNA 的 A 链和 B 链, 重新编排碱基名称和序号, 修改识别错误的原子类型, 在 Sybyl 6.9<sup>[145]</sup>中给错配 DNA 赋予 Gasteiger Hückel 电荷。配合物  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$  的结构仍从 DFT 计算结果中获取, 并手动写入自然布居分析所得到的电荷信息。错配 DNA 受体的表面使用 DMS 程序进行计算<sup>[97]</sup>, 在 Dock 程序包<sup>[146]</sup>中, 活性位点是球 (sphere) 来描述, 每一个球 (sphere) 都按照同样大小至少与受体表面的两个分子表面相切, 球的计算遍及整个受体分子表面, 使用结阶层式分群演算法<sup>[147]</sup>通过产生球的密度来筛选最大的一组球作为一个集合。每一簇就是一个对接的活性位点来作为对接的目标。用 SPHGEN 模块来定义错配 DNA 的活性位点。在错配 DNA 的七个位点, 分别从小沟、大沟采用刚性对接方法将  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$  自动对接到 DNA 碱基对之间。计算采用分子对接程序 Dock6.2, 对接盒子边长设定为 20Å, 空间格子步长设定为 0.3 Å, 能量缺省值距离为 9999 Å, 最大构象搜索设定为 100000 圈。其他参数如无特殊标注均采用默认值。

### 3.3 计算结果与讨论

#### 3.3.1 分子力学模拟结果

配合物  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$  在错配 DNA 的 C2G2/G3A3, G3A3/A4G4, A4G4/A5T5, A5T5/T6A6, T6A6/G7A7, G7A7/A8G8, A8G8/G9C9 位点, 分别从大沟和小沟插入后, 以各个插入深度记录点为初始构象, 优化后的体系势能值如

表 3-1, 表 3-2 所示。优化得到能量最小的最优构型的能量值用黑体表示。在配合物  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$  未插入错配 DNA 之前, 错配 DNA 的优化势能值为 943.1070Kcal/mol,  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$  的能量为 52.2750Kcal/mol, 即  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$  插入到错配 DNA 前, 配合物和错配 DNA 总能量为 995.3820Kcal/mol。在生理环境中, 很少出现如加热、光照等反应条件。室温下环境可提供给反应体系的能量大约为 7kcal/mol<sup>[134]</sup>。也就是说, 如果在配合物向 DNA 碱基堆积插入的过程中, 插入后的体系能量低于插入前的能量超过 7Kcal/mol, 则认为这次插入是成功的<sup>[83]</sup>。从

表 3-1, 表 3-2 中可以看出, 在所有位点  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$  插入后, 体系势能比插入前低 100Kcal/mol 以上, 远远大于室温环境可提供的能量 7kcal/mol。这说明,  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$  能手动顺利插入到所有位点的碱基对间, 然而分子力学计算是较粗略的计算, 为了得到精确的结果, 需要作进一步的量子化学计算。

表 3-1  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$  从大沟错配 DNA 各个位点优化后的体系势能值

位点	C2G2/G3A3	G3A3/A4G4	A4G4/A5T5	A5T5/T6A6	T6A6/G7A7	G7A7/A8G8	A8G8/G9C9
配对类型	正常/错配	错配/错配	错配/正常	正常/正常	正常/错配	错配/错配	错配/正常
1	885.2352	<b>871.9837</b>	<b>862.8623</b>	860.4456	--	874.8378	869.2529
2	875.4932	873.5385	863.6821	860.6200	875.0149	874.9956	<b>860.4966</b>
3	883.8857	874.0325	863.5711	860.9960	874.7512	875.1254	866.6244
4	882.7117	874.6321	863.2985	860.8221	874.1817	875.2165	866.4933
5	876.1212	876.2955	864.7512	865.5764	868.9865	<b>875.1667</b>	866.3905

6	874.8442	876.4721	865.3633	863.1611	<b>868.3087</b>	875.6781	867.4125
7	<b>874.8386</b>	875.3325	864.5948	<b>849.4001</b>	870.3246	875.2752	866.9852
8	874.6902	874.9996	864.2784	851.8066	870.3544	875.8461	866.5673

表 3-2 [Ru(phen)<sub>2</sub>(dppz)]<sup>2+</sup> 从大沟错配 DNA 各个位点优化后的体系势能值

位点	C2G2/G3A3	G3A3/A4G4	A4G4/A5T5	A5T5/T6A6	T6A6/G7A7	G7A7/A8G8	A8G8/G9C9
配对类型	正常/错配	错配/错配	错配/正常	正常/正常	正常/错配	错配/错配	错配/正常
1	866.0063	<b>864.6075</b>	<b>844.9494</b>	852.9003	848.8856	887.5003	<b>870.0391</b>
2	<b>864.9579</b>	875.5148	845.2302	852.9682	846.1514	888.3895	875.4582
3	865.5881	874.1076	863.5451	<b>852.1142</b>	850.7419	887.8641	875.5656
4	867.1173	874.6659	860.8015	854.4132	847.1501	884.2547	875.2654
5	866.5476	870.3651	860.9523	854.7152	<b>847.0368</b>	<b>881.1654</b>	876.3958
6	870.0291	874.9984	860.5987	854.3625	859.7209	886.9319	876.2698
7	887.1305	874.7924	861.5033	854.4672	858.3684	884.3655	875.3197
8	871.5492	873.0257	861.9607	854.0207	858.6524	885.3125	876.2483

### 3.3.2 量子化学计算结果

经过 DFT 计算, [Ru(phen)<sub>2</sub>(dppz)]<sup>2+</sup> 在各个位点, 分别从大沟和小沟插入的 14 个模型的精确能量如表 3-3, 表 3-4 所示。键合能量由如下方法计算得到:

$$E_{\text{binding}} = E_{\text{base}} + E_{\text{ligand}} - E_{\text{total}}$$

$E_{\text{total}}$  为配合物 [Ru(phen)<sub>2</sub>(dppz)]<sup>2+</sup> 与相邻最近的上下各四个碱基的总能量,  $E_{\text{base}}$  为 [Ru(phen)<sub>2</sub>(dppz)]<sup>2+</sup> 未插入时碱基的能量,  $E_{\text{ligand}}$  为 [Ru(phen)<sub>2</sub>(dppz)]<sup>2+</sup> 最优化构型的能量,  $E_{\text{binding}}$  为键合能。

从表 3-3, 表 3-4 中可以看出, 除正常配对的 A5T5/T6A6 位点外, 在其余位点 [Ru(phen)<sub>2</sub>(dppz)]<sup>2+</sup> 插入后, 体系势能比插入前低得多, 远远大于室温环境可提供的能量 7kcal/mol。这说明 [Ru(phen)<sub>2</sub>(dppz)]<sup>2+</sup> 能顺利插入到除正常配对的 A5T5/T6A6 位点以外的碱基对间。同时, 当 [Ru(phen)<sub>2</sub>(dppz)]<sup>2+</sup> 在 A4G4/A5T5 位点从小沟方向插入时, 键合能量最大。这说明, [Ru(phen)<sub>2</sub>(dppz)]<sup>2+</sup> 特异性地识别

错配 DNA 的 A4G4/A5T5 小沟位点。

表 3-3 [Ru(phen)<sub>2</sub>(dppz)]<sup>2+</sup> 从大沟插入各位点的 DFT 精确能量

位点	C2G2/G3A3	G3A3/A4G4	A4G4/A5T5	A5T5/T6A6	T6A6/G7A7	G7A7/A8G8	A8G8/G9C9
配对类型	正常/错配	错配/错配	错配/正常	正常/正常	正常/错配	错配/错配	错配/正常
$E_{total}$ (a.u.)	-10655.589419	-10639.618660	-10623.274371	-10623.351695	-10623.524876	-10639.522857	-10655.608906
$E_{base}$ (a.u.)	-8507.432683	-8491.022241	-8474.920899	-8553.598329	-8474.958623	-8491.408584	-8507.432683
$E_{ligand}$ (a.u.)	-2147.480579	-2147.480579	-2147.480579	-2147.480579	-2147.480579	-2147.480579	-2147.480579
$E_{binding}$ (a.u.)	0.676157	1.115840	0.872892	-77.727214	1.085674	0.633693	0.695644
$E_{binding}$ (Kcal/mol)	424.294791	700.199392	547.747774	-48774.526267	681.269892	397.648186	436.522683

表 3-4 [Ru(phen)<sub>2</sub>(dppz)]<sup>2+</sup> 从小沟插入各位点的 DFT 精确能量

位点	C2G2/G3A3	G3A3/A4G4	A4G4/A5T5	A5T5/T6A6	T6A6/G7A7	G7A7/A8G8	A8G8/G9C9
配对类型	正常/错配	错配/错配	错配/正常	正常/正常	正常/错配	错配/错配	错配/正常
$E_{total}$ (a.u.)	-10655.582887	-10639.670289	-10623.571876	-10623.530979	-10623.180437	-10639.656100	-10655.668010
$E_{base}$ (a.u.)	-8507.432683	-8491.022241	-8474.920899	-8553.598329	-8474.958623	-8491.408584	-8507.432683
$E_{ligand}$ (a.u.)	-2147.480579	-2147.480579	-2147.480579	-2147.480579	-2147.480579	-2147.480579	-2147.480579
$E_{binding}$ (a.u.)	0.669625	1.167468	1.170397	-77.547930	0.741235	0.766937	0.754748
$E_{binding}$ (Kcal/mol)	420.195651	732.596928	734.434839	-48662.023944	465.131634	481.259556	473.611351

### 3.3.3 分子对接结果

分子对接所得到在各个位点的对接结合能如表 3-5, 表 3-6 所示。其中,  $E_{total}$  为分子对接计算的结合能,  $E_{vdw}$  为范德华作用能,  $E_{elect}$  静电作用能,  $E_{total}=E_{vdw}+E_{elect}$ 。分子对接所得到能量打分为负值, 绝对值越大, 结合能越大。

结果同样发现, 当 [Ru(phen)<sub>2</sub>(dppz)]<sup>2+</sup> 在 A4G4/A5T5 位点从小沟方向插入时,

体系的能量最低。这说明,  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$  特异性地识别错配 DNA 的 A4G4/A5T5 小沟位点。

 表 3-5  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$  从大沟插入各位点的分子对接能量

位点	C2G2/G3A3	G3A3/A4G4	A4G4/A5T5	A5T5/T6A6	T6A6/G7A7	G7A7/A8G8	A8G8/G9C9
配对类型	正常/错配	错配/错配	错配/正常	正常/正常	正常/错配	错配/错配	错配/正常
$E_{\text{total}}$ (Kcal/mol)	-68.4072	-71.4408	-73.5801	-87.9952	-74.7525	-76.3751	-69.0185
$E_{\text{vdw}}$ (Kcal/mol)	-48.7380	-50.7861	-49.2476	-60.2083	-51.9570	-51.6461	-49.3602
$E_{\text{elect}}$ (Kcal/mol)	-19.6697	-20.6546	-24.3325	-27.7868	-22.7955	-24.7290	-19.6582

 表 3-6  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$  从小沟插入各位点的分子对接能量

位点	C2G2/G3A3	G3A3/A4G4	A4G4/A5T5	A5T5/T6A6	T6A6/G7A7	G7A7/A8G8	A8G8/G9C9
配对类型	正常/错配	错配/错配	错配/正常	正常/正常	正常/错配	错配/错配	错配/正常
$E_{\text{total}}$ (Kcal/mol)	-66.0650	-62.4761	-80.1891	-79.6076	-52.7265	-60.0095	-68.1788
$E_{\text{vdw}}$ (Kcal/mol)	-49.9485	-47.1740	-59.9636	-60.8970	-37.9994	-44.9459	-53.2242
$E_{\text{elect}}$ (Kcal/mol)	-16.1165	-15.2961	-20.2255	-18.7105	-14.7270	-15.0636	-14.9545

### 3.4 配合物 DNA 序列识别与沟选择性的理论解释

#### 3.4.1 对错配 DNA 的碱基序列识别

钌(II)多吡啶配合物对 DNA 序列的识别(即对 DNA 一级结构的识别)建立在对 DNA 二级结构识别的基础上。除了配合物的结构要与 DNA 有所匹配外,配合物与碱基之间的作用也是影响识别作用的重要因素。因此考察 DNA 序列识别探针过程中,需要考虑配合物的空间结构,配合物与 DNA 的物理、化学性质之间的关系等因素。由于影响这些性质的因素很多,因此多吡啶钌(II)配合物对 DNA 序列的识别作用及机制非常复杂<sup>[39]</sup>。

A5T5/T6A6 是错配 DNA 碱基堆积中唯一正常配对的 AT 碱基对,与正常

DNA 碱基堆积中的 A5T5/T6A6 碱基对相比, 有着明显的区别。正常 DNA 中腺嘌呤(A)与胸腺嘧啶(T)配对, 形成两个氢键, 鸟嘌呤(G)与胞嘧啶(C)配对, 形成三个氢键, 各个氢键的键长如表 3-7 所示。而在错配 DNA 中的腺嘌呤(A)与鸟嘌呤(G)配对, 腺嘌呤(A)的 N3 与鸟嘌呤(G)的 N11 上的氢形成一个氢键, 键长为 2.132Å; 腺嘌呤(A)的 N10 上的氢与鸟嘌呤(G)的 N8 形成另一个氢键, 键长 2.034Å, 如图 3-1 所示。这两个氢键的键长均比正常配对碱基的氢键长, 如表 3-7 所示, 所以错误配对的碱基序列 AG 的氢键作用较弱。且在错配 DNA 中, 由于是腺嘌呤(A)与鸟嘌呤(G)配对, A、G 碱基不能处在同一平面上, 而是存在一定的空间阻碍作用。这两个原因, 导致错配 DNA 的双螺旋直径比正常 DNA 大约 1.5 Å, 如图 3-2 所示。正常 DNA 中的 AT 碱基对的氢键 N10—H…O8, N6…H—N5 的键长分别为 1.864Å 和 1.815Å, 错配 DNA 中, 由于双螺旋直径增加, AT 碱基对的氢键键长分别增加了约 0.13Å 和 0.15Å, 达到了 1.943Å 和 2.112Å, 如表 3-8 所示。正是因为如此, 错配 DNA 的碱基序列 A5T5/T6A6 中, 腺嘌呤(A)与胸腺嘧啶(T)的氢键作用比正常 DNA 的 A5T5/T6A6 的氢键作用弱, 当  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$  插入后, 碱基堆积不能保持原来的构型, 形成氢键的碱基腺嘌呤(A)与胸腺嘧啶(T)不能保持在同一平面上, 而互成约 20° 夹角, 从而破坏了 A5T5/T6A6 和相邻碱基 A4G4/A5T5、T6A6/G7A7 的  $\pi-\pi$  堆积作用。由于腺嘌呤(A)与胸腺嘧啶(T)互成约 20° 夹角, dppz 平面无法保持和腺嘌呤(A)、胸腺嘧啶(T)平行, 所以 A5T5/T6A6 和 dppz 无法形成有效的  $\pi-\pi$  堆积, 最终导致  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$  插入后, 体系的能量升高。

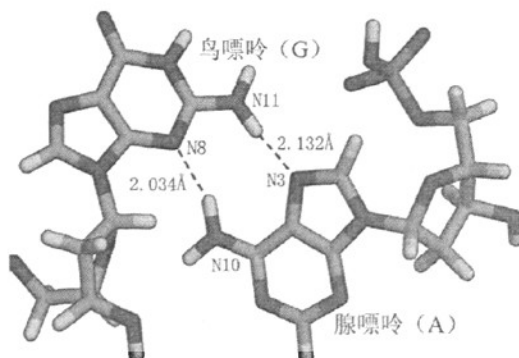


图 3-1 错配 DNA 的 AT 碱基对中的氢键

表 3-7 正常配对的 AT、GC 和错误配对的 AG 碱基所形成的氢键和键长 (键长单位: Å)

	氢键位置	键长	氢键位置	键长	氢键位置	键长
AT配对	N10—H...O8	1.864	N6...H—N5	1.815	---	---
GC配对	O10...H—N8	1.725	N6...H—N5	1.907	N11—H...O9	1.996
AG错配	N3...H—N11	2.132	N10—H...N8	2.034	N10—H...O	2.351

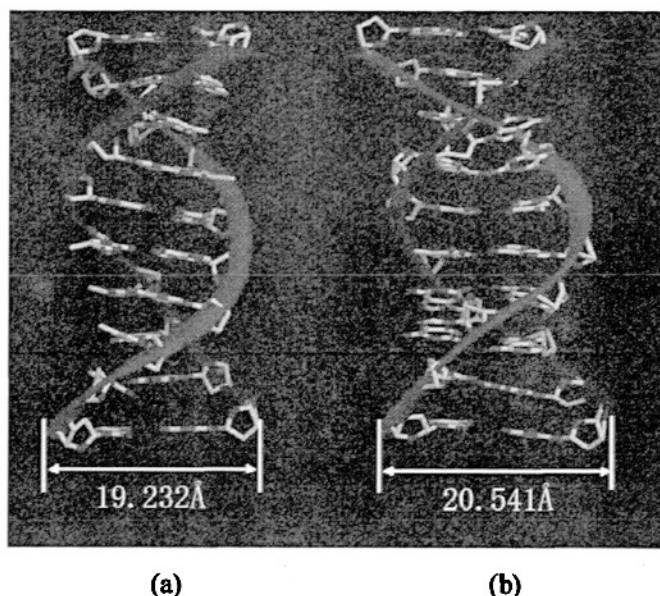


图 3-2 正常 DNA 和错配 DNA 的双螺旋直径

(a) 正常 DNA d(CCTAATTAGG)<sub>2</sub> (b) 错配 DNA d(CCGAATGAGG)<sub>2</sub>

表 3-8 正常 DNA 的 AT 碱基对和错配 DNA 的 AT 碱基对中的氢键键长对比 (键长单位: Å)

	N6...H—N5	N10—H...O8
正常DNA中的AT配对	1.815	1.864
错配DNA中的AT配对	1.943	2.112

G3A3/A4G4, G7A7/A8G8 两个位点存在着连续错误配对的腺嘌呤(A)与鸟嘌呤(G)碱基。正常配对的碱基形成氢键时, 采用正面的原子形成氢键, 而在 AG 错配中, 却采用了嘌呤环侧面的 N3, 和糖环上的 O, 这样的结果是 AG 碱基发生一定角度的扭转, 使得在 G3A3/A4G4 位点鸟嘌呤 G3 和 G4 伸向大沟方向,



腺嘌呤 A3 和 A4 伸向小沟方向，而在 G7A7/A8G8 位点，G7 和 G8 碱基伸向大沟方向，腺嘌呤 A7 和 A8 伸向小沟方向，如图 3-3，图 3-4 所示。 $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$ 键合到双错配位点时，分开从大沟插入和从小沟插入两种情况讨论。 $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$ 从大沟插入到双错配位点 G3A3/A4G4 时，主配体 dppz 首先接近鸟嘌呤 G3 和 G4 碱基，dppz 插入到鸟嘌呤 A3 和 A4 碱基中间，G3、G4 和 dppz 三平面互相平行，平面间距离为 3.268Å，形成  $\pi-\pi$  堆积。 $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$ 从小沟插入到双错配位点 G3A3/A4G4 时，主配体 dppz 首先接近鸟嘌呤 A3 和 A4 碱基，dppz 插入到鸟嘌呤 A3 和 A4 碱基中间，A3、A4 和 dppz 三平面互相平行，平面间距离为 3.275Å，形成  $\pi-\pi$  堆积。 $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$ 从插入到 G7A7/A8G8 双错配位点时，同样也形成了  $\pi-\pi$  堆积作用。所以，在 G3A3/A4G4，G7A7/A8G8 双 AG 错配位点， $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$ 插入后主配体 dppz 和相邻的两个腺嘌呤(A)碱基，或和相邻的两个鸟嘌呤(G)碱基形成了  $\pi-\pi$  堆积作用，有利于体系能量降低。

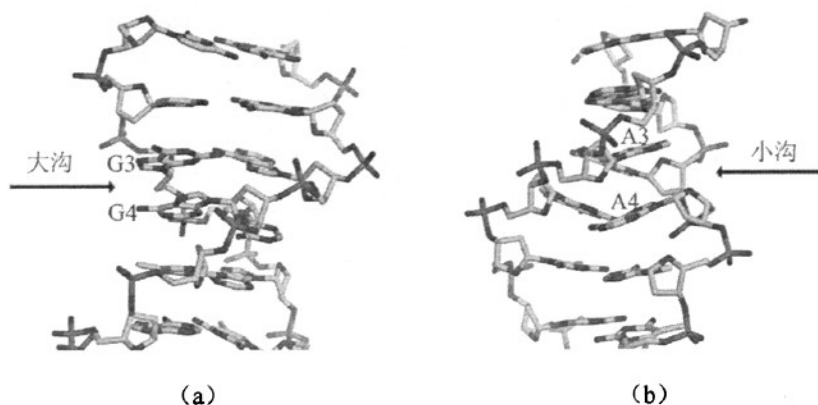


图 3-3 G3A3/A4G4 位点 (a) 大沟方向 (b) 大沟方向

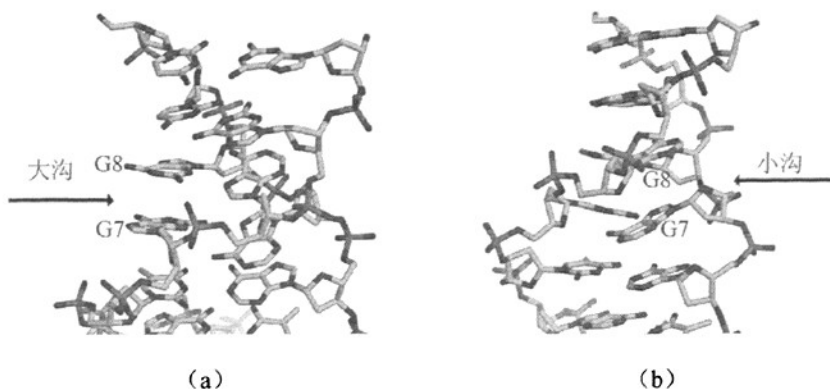


图 3-4 G7A7/A8G8 位点 (a) 大沟方向 (b) 大沟方向

C2G2/G3A3和T6A6/G7A7位点的配对类型为正常/错配, A8G8/G9C9和 A4G4/A5T5位点的配对类型为错配/正常。在这些位点,  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$ 均能够顺利插入, 主配体dppz插入到各个位点的相邻两对碱基对中间, 且基本与碱基对平行。整个DNA骨架由于主配体dppz的插入而伸长, 碱基对间的距离增大为原来的约两倍。当 $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$ 插入到A4G4/A5T5位点时, 体系的能量明显降低。主配体dppz插入碱基对的深度大约为8 Å, 与上下相邻碱基的距离约为3.4 Å。与在其他位点插入相比, 当 $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$ 在A4G4/A5T5位点从小沟方向插入时, 键合能最大, 体系的能量最低。这说明,  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$ 特异性地识别错配DNA的A4G4/A5T5位点。 $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$ 在A4G4/A5T5位点键合到错配DNA的构象如图 3-5所示。

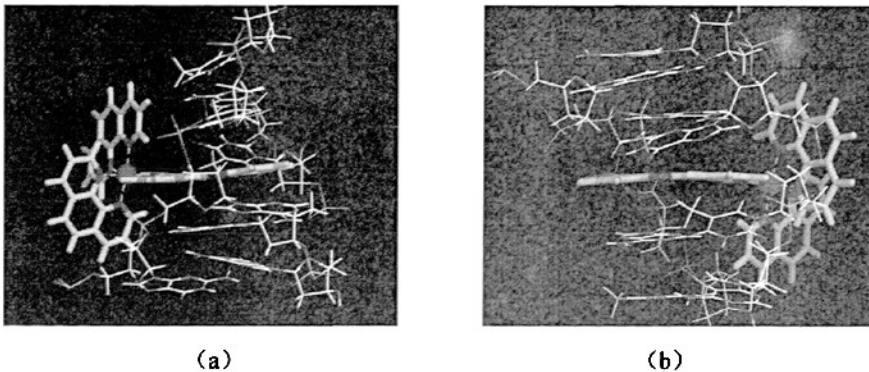


图 3-5  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$ 在 A4G4/A5T5 位点键合到错配 DNA 的构象  
(a) 从大沟方向, (b) 从小沟方向

### 3.4.2 沟选择性

在正常配对的 A5T5/T6A6,  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$ 插入后体系能量升高, 所以在该位点不讨论大小沟选择性。在 G3A3/A4G4, G7A7/A8G8 双 AG 错配位点,  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$ 从小沟插入小沟的键合能  $E_{\text{binding}}$  比从大沟插入的键合能  $E_{\text{binding}}$  大, 说明 $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$ 在这些位点优先从小沟插入。

$[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$ 从小沟插入到 A4G4/A5T5 位点, 键合能  $E_{\text{binding}}$  为

734.434839Kcal/mol, 从大沟插入后, 键合能  $E_{\text{binding}}$  为 547.747774Kcal/mol。  
 $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$  在小沟插入的能量比在大沟插入的能量低  
 186.687065Kcal/mol。可见, 在 A4G4/A5T5 位点,  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$  从小沟插  
 入在能量上有优势。 $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$  在 A4G4/A5T5 位点优先从小沟插入还有  
 空间效应的原因。A、G 错配碱基不处在同一平面上, 而是存在一定的空间阻碍  
 作用。这使得错配 DNA 的磷酸骨架在 A4G4/A5T5 位点的小沟方向有特殊的扭曲,  
 从而形成一个拱门状的弯曲,  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$  的辅助配体 phen 楔入到磷  
 酸骨架的拱门状凹陷处, 使得整个  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$  刚好与 A4G4/A5T5 位点  
 的磷酸骨架吻合, 如图 3-6 所示。而  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$  从大沟插入 A4G4/A5T5 位  
 点时, 辅助配体 phen 和磷酸骨架、碱基对均产生较大的空间位阻, 如图 3-7 所  
 示。

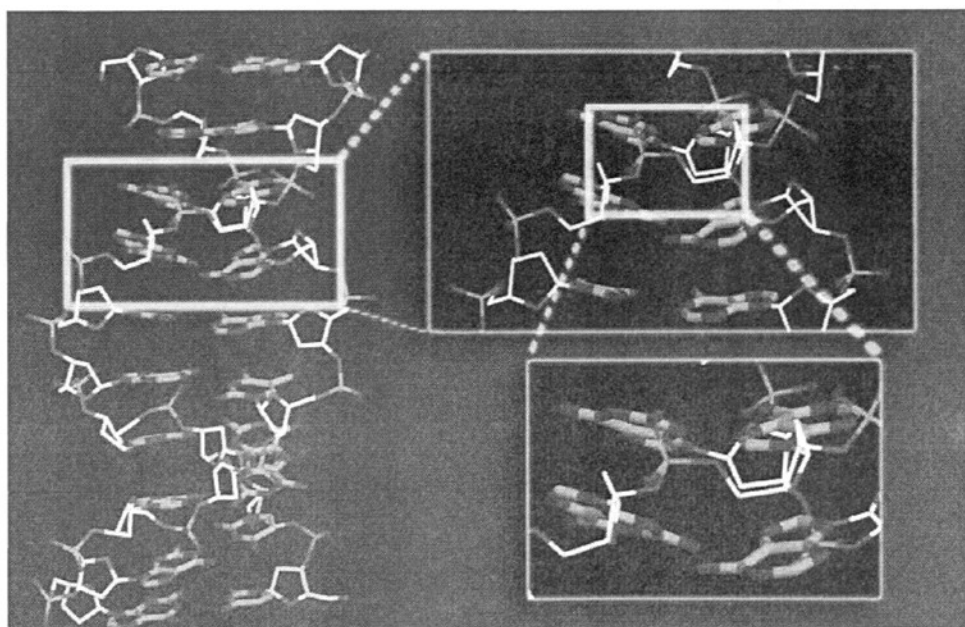
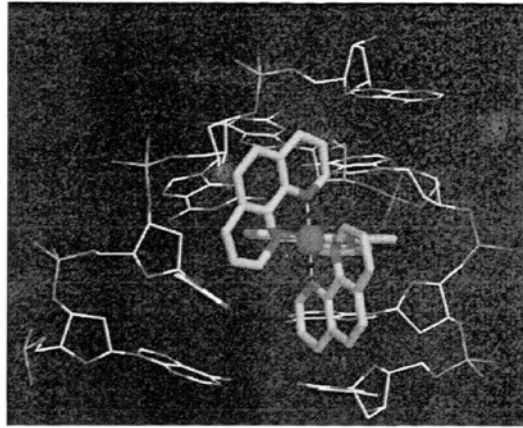
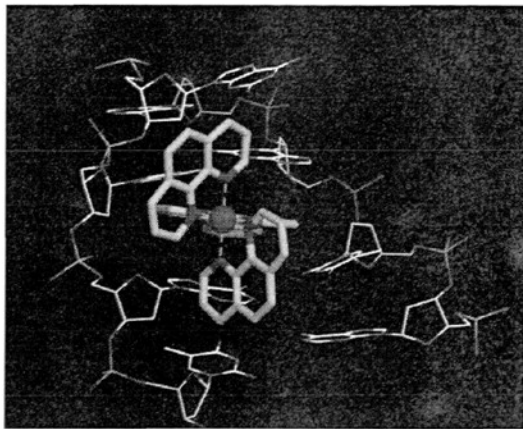


图 3-6 错配 DNA 磷酸骨架在 A4G4/A5T5 位点的小沟方向形成的拱门状弯曲



(a)



(b)

图 3-7  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$  分别从大、小沟插入 A4G4/A5T5 位点的磷酸骨架吻合程度

(a) 从小沟插入时, 辅助配体 phen 楔入到磷酸骨架的拱门状凹陷处。

(b) 从大沟插入时, 辅助配体 phen 和磷酸骨架、碱基对均产生较大的空间位阻

### 3.4.3 分子对接结果讨论

从分子对接结果可以看出, 分子探针  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$  能从大沟、小沟方向自动对接到错配 DNA 的各个位点。Docking 计算结果的构象也和分子力学建模优化后得到的构象基本一致, 如图 3-8, 图 3-9 所示, 很好地印证了模型的可靠性。在 A4G4/A5T5 位点, 从小沟对接的结合作用比从大沟强, 与 DFT 计算结果相吻合。

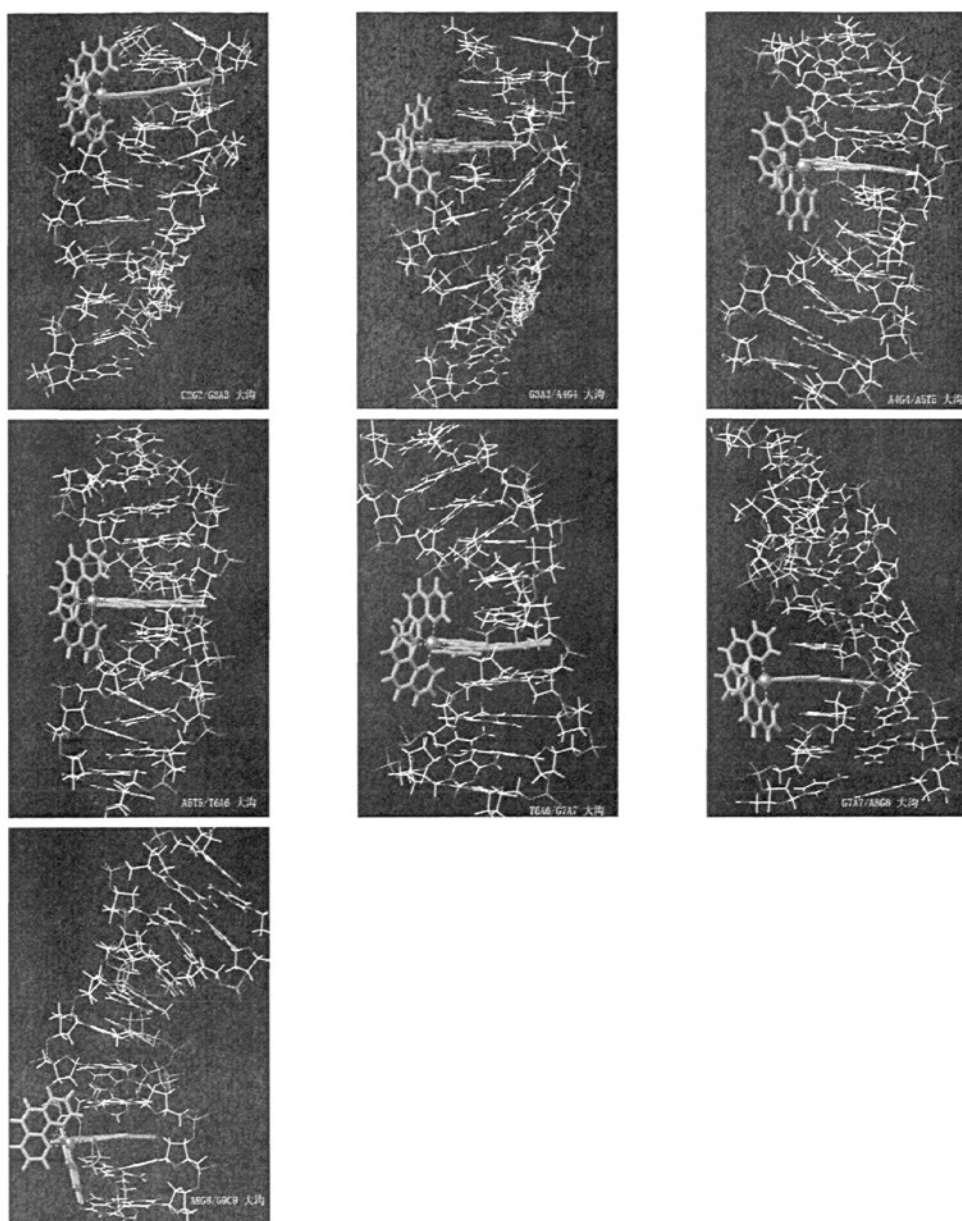


图 3-8 分子对接计算得到的 $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$ 从大沟键合到错配 DNA 的构象

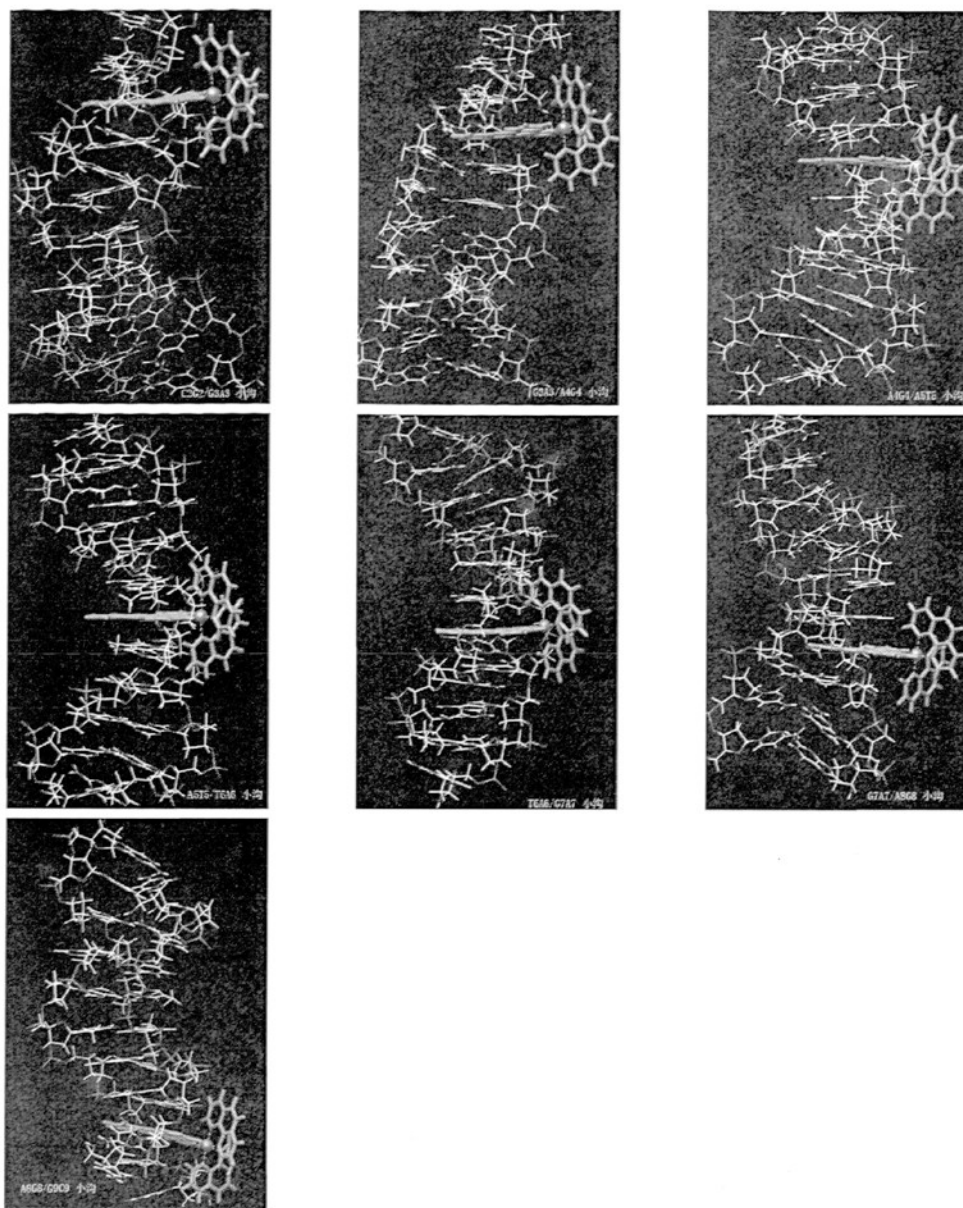


图 3-9 分子对接计算得到的 $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$ 从小沟键合到错配 DNA 的构象

### 3.5 本章小结

本文选用 $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$ 为分子探针，模拟了 $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$ 与错配 DNA（十个碱基对模型）的整体模型，用分子力学（MM2）、量子化学（DFT）和分子对接(Docking)相结合的方法研究其与错配 DNA 的作用规律。探讨了

$[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$  分子探针对错配 DNA 的大小沟插入选择性、碱基对识别规律、各个碱基对位点的结合能量以及作用构象。计算结果如下：

1.  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$  以插入方式键合到错配 DNA 碱基序列时，在错配的碱基对中插入后体系的能量显著低于插入前的能量；而在正常配对的 A5T5/T6A6 位点，插入后体系的能量比插入前的能量高。这说明  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$  能插入到错配 DNA 的错配碱基对中，而不能插入到错配 DNA 的正常配对碱基对中。

2. 当  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$  以插入方式键合到 DNA 各个错配的碱基对中时，在错配的 A4G4/A5T5 位点的结合能比其他位点的结合能大，这表明  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$  优先识别 A4G4/A5T5 错配碱基对。在错配的 A4G4/A5T5 位点， $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$  从小沟方向插入的能量比从大沟插入的能量低约 190Kcal/mol，表明  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$  在该位点应优先从小沟方向插入。

3. 分析键合构象后发现， $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$  的主配体 dppz 插入到各个位点的相邻两对碱基对中间，且基本与碱基对平行，而两个辅助配体位于碱基对外。整个 DNA 骨架由于主配体 dppz 的插入而伸长，碱基对间的距离增大为原来的约两倍。

4. Docking 计算的结合能与 DFT 计算结果相吻合，而且对接结果的构象也和分子力学建模优化后得到的构象基本一致，很好地印证了模型的可靠性。

## 第 4 章 $\Delta, \Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup> 与错配 DNA 的键合规律

### 4.1 引言

本院生物无机化学小组合成了具有光裂解性质的一系列手性配合物  $\Delta, \Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup> [L=*o*-hpip, *m*-hpip, *p*-hphp], 如图 4-1。该系列配合物<sup>[119]</sup>的主配体 hpip 具有和 dppz 类似的性质, 具有良好的平面性。本章将研究主配体 hpip 上羟基在不同的位置上, 且形成分子内氢键后, 对 DNA 键合性质的影响, 以及该系列配合物与 DNA 键合的大小沟选择性和手性选择性。

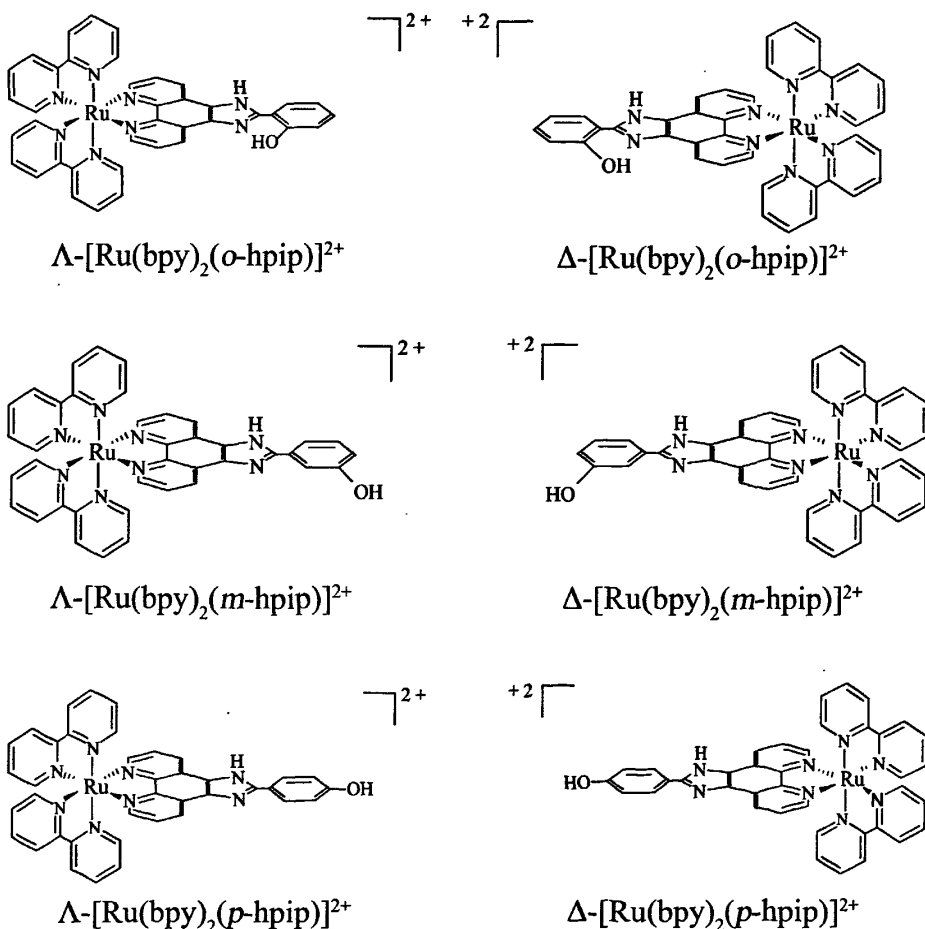


图 4-1  $\Delta, \Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup> [L=*o*-hpip, *m*-hpip, *p*-hphp] 结构示意图



## 4.2 计算模型与方法

### 4.2.1 分子力学模型

本文采用分子力学 (MM2) 方法建立错配 DNA 与  $\Delta, \Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup> [L=*o*-hpip, *m*-hpip, *p*-hphp] 系列配合物键合的整体模型。错配 DNA 序列 d(CCGAATGAGG)<sub>2</sub> 从蛋白质结构数据库 (Research Collaboratory for Structural Bioinformatics Protein Data Bank, RCSB PDB) 获取, 建立模型时只保留 A 链和 B 链, 并删除所有结晶水分子以及金属离子。

从第三章的工作结果可知, 分子探针 [Ru(phen)<sub>2</sub>(dppz)]<sup>2+</sup> 在错配 DNA 序列 d(CCGAATGAGG)<sub>2</sub> 中的 A4G4/A5T5 具有特异识别作用, 且具有明显的沟选择性, 本章只选择 A4G4/A5T5 位点来考察  $\Delta, \Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup> [L=*o*-hpip, *m*-hpip, *p*-hphp] 系列配合物的键合规律性。配合物  $\Delta, \Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup> [L=*o*-hpip, *m*-hpip, *p*-hphp] 的结构均从 DFT 计算结果中获取, 在 B3LYP/Lanl2DZ 水平上进行优化, 无虚频, 为合理构象。在模拟过程中, 采用手动插入的方式建立错配 DNA-配合物的整体模型, 并用共轭梯度法, 对该整体模型进行优化直到 RMS 值小于 0.5Kcal/mol, 此步骤的目的是为了搜寻错配 DNA-配合物的最佳相对位置<sup>[81, 143]</sup>。对  $\Delta, \Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup> 找到错配 DNA-配合物的最佳相对位置后, 主配体 hpip 平面与 DNA 碱基平面平行, 且 hpip 平面与上下两个相邻碱基平面的距离相等。不改变主配体 hpip 与上下两个相邻碱基平面的距离, 且保持 hpip 平面与 DNA 碱基平面平行, 调整  $\Delta, \Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup> 和 DNA 螺旋的相对位置, 使得主配体 hpip 的前端刚好位于 DNA 碱基对边沿, 将该位置定义为 0。手动改变  $\Delta, \Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup> 和 DNA 螺旋的相对位置, 使主配体 hpip 的前端进入 DNA 碱基内 1Å, 将该位置定义为 1, 以相同方法定义位置 2、3 等其他位置, 直到主配体 hpip 完全插入到 DNA 碱基内。对每一个记录点的错配 DNA-配合物整体模型使用共轭梯度法进行优化, 直到 RMS 值小于 0.05Kcal/mol, 找到错配 DNA-配合物整体模型的最优构象。在错配 DNA 序列 d(CCGAATGAGG)<sub>2</sub> 的 A4G4/A5T5 位点, 分别模拟了  $\Delta$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>(*o*-hpip)]<sup>2+</sup>,  $\Delta$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>(*m*-hpip)]<sup>2+</sup>,  $\Delta$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>(*p*-hphp)]<sup>2+</sup>,  $\Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>(*o*-hpip)]<sup>2+</sup>,  $\Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>(*m*-hpip)]<sup>2+</sup>,  $\Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>(*p*-hphp)]<sup>2+</sup> 共六个手

性钌(II)多吡啶配合物分别从大沟和小沟插入 DNA 的分子力学模型。分子力学模拟工作使用 HyperChem 程序<sup>[144]</sup>完成,除特殊指明外所有参数均默认值。

#### 4.2.2 量子化学计算

从分子力学模拟结果中发现,  $\Delta, \Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup>键合到碱基堆积后,距主配体 *o*-hpip, *m*-hpip, *p*-hphp 相邻最近的上下各四个碱基与配合物的作用较强,其余碱基与  $\Delta, \Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup>的距离超过 6 Å,作用较弱,所以提取量子化学计算模型时,只保留配合物  $\Delta, \Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup>、与主配体 *o*-hpip, *m*-hpip, *p*-hphp 相邻最近的八个碱基,以及这八个碱基的磷酸骨架。从分子力学模拟结果共提取了  $\Delta, \Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup> [L=*o*-hpip, *m*-hpip, *p*-hphp]系列配合物在 A4G4/A5T5 位点,分别从大沟和小沟插入的 12 个模型,分别为:



对上述 12 个模型,采用 DFT 方法,在 B3LYP/Lan2DZ 水平对以上 12 个配合物-DNA 模型进行精确能量计算以及自然轨道布居分析。并对未键合  $\Delta, \Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup>的 DNA 序列 G3A4/A5T6 位点模型用相同的方法进行精确能量计算以及自然轨道布居分析,量子化学计算在 Linux 平台上用 Gaussian03 程序包<sup>[105]</sup>完成。

### 4.2.3 分子对接

分子对接的错配 DNA 受体模型从分子力学模拟结果中获得。错配 DNA 受体经过如下步骤处理：删除分子力学模拟得到的整体模型中的  $\Delta, \Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup>，重新定义错配 DNA 的 A 链和 B 链，重新编排碱基名称和序号，修改识别错误的原子类型，在 Sybyl 6.9<sup>[145]</sup>中给错配 DNA 赋予 Gasteiger Hückel 电荷。配合物  $\Delta, \Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup>的结构仍从 DFT 计算结果中获取，并手动写入自然布居分析所得到的电荷信息。错配 DNA 受体的表面使用 DMS 程序进行计算<sup>[97]</sup>，在 Dock 程序包<sup>[146]</sup>中，活性位点是球 (sphere) 来描述，每一个球 (sphere) 都按照同样大小至少与受体表面的两个分子表面相切，球的计算遍及整个受体分子表面，使用结阶层式分群演算法<sup>[147]</sup>通过产生球的密度来筛选最大的一组球作为一个集合。每一簇就是一个对接的活性位点来作为对接的目标。用 SPHGEN 模块来定义错配 DNA 的活性位点。在错配 DNA 的 G3A4/A5T6 位点，分别从大沟、小沟采用刚性对接方法将  $\Delta, \Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup>自动对接到 DNA 碱基对之间。计算采用分子对接程序 Dock6.2，对接盒子边长设定为 20Å，空间格子步长设定为 0.3 Å，能量缺省值距离为 9999 Å，最大构象搜索设定为 100000 圈。其他参数如无特殊标注均采用默认值。

## 4.3 计算结果与讨论

### 4.3.1 分子力学模拟结果

在配合物  $\Delta, \Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup>未插入错配 DNA 的 A4G4/A5T5 位点之前， $\Delta$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>(*o*-hpip)]<sup>2+</sup>， $\Delta$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>(*m*-hpip)]<sup>2+</sup>， $\Delta$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>(*p*-hphp)]<sup>2+</sup>， $\Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>(*o*-hpip)]<sup>2+</sup>， $\Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>(*m*-hpip)]<sup>2+</sup>， $\Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>(*p*-hphp)]<sup>2+</sup>的能量如表 4-1 所示。

表 4-1  $\Delta, \Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup> [L=*o*-hpip, *m*-hpip, *p*-hphp]分子力学优化能量 (单位: Kcal/mol)

	$\Delta$	$\Lambda$
[Ru(bpy) <sub>2</sub> ( <i>o</i> -hpip)] <sup>2+</sup>	58.4066	58.2053

$[\text{Ru}(\text{bpy})_2(m\text{-hpip})]^{2+}$	57.7179	57.4996
$[\text{Ru}(\text{bpy})_2(p\text{-hphp})]^{2+}$	57.3855	57.4761

配合物  $\Delta, \Lambda\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{L}]^{2+}$  在错配 DNA 的 A4G4/A5T5 位点分别从大沟和小沟插入后, 以各个插入深度记录点为初始构象, 优化后的体系势能值如

表 4-1 所示。优化得到能量最小的最优构型的能量值用黑体表示。在配合物  $\Delta, \Lambda\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{L}]^{2+}$  未插入错配 DNA 之前, 错配 DNA 的优化势能值为 943.1070Kcal/mol,  $\Delta, \Lambda\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{L}]^{2+}$  分别从大沟、小沟插入到错配 DNA 的 A4G4/A5T5 位点后, 体系能量如表 4-2, 表 4-3, 表 4-4, 表 4-5 所示。从表中可以看出, 在  $\Delta, \Lambda\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{L}]^{2+}$  插入后, 体系势能比插入前低 100Kcal/mol 以上, 远远大于室温环境可提供的能量 7kcal/mol。这说明,  $\Delta, \Lambda\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{L}]^{2+}$  [L=*o*-hpip, *m*-hpip, *p*-hphp] 能手动顺利插入到错配 DNA 的 A4G4/A5T5 位点的碱基对间。

表 4-2  $\Delta\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{L}]^{2+}$  [L=*o*-hpip, *m*-hpip, *p*-hphp] 从大沟插入到 A4G4/A5T5 位点的能量值 (单位: Kcal/mol)

	$\Delta\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(o\text{-hpip})]^{2+}$	$\Delta\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(m\text{-hpip})]^{2+}$	$\Delta\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(p\text{-hphp})]^{2+}$
0	884.7753	---	---
1	885.1465	---	---
2	857.2746	856.3660	884.2580
3	858.3957	856.7810	878.7305
4	865.2563	856.9905	878.3927
5	865.7827	856.2422	858.9244
6	868.3972	856.6034	857.5966
7	864.1504	<b>854.4363</b>	856.7051
8	<b>844.5217</b>	857.6990	856.0772
9	857.5214	863.5979	<b>843.6125</b>
10	---	---	852.3739

表 4-3  $\Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup> [L=*o*-hpip, *m*-hpip, *p*-hphp]从大沟插入到 A4G4/A5T5 位点的能量值  
(单位: Kcal/mol)

	$\Lambda$ -[Ru(bpy) <sub>2</sub> ( <i>o</i> -hpip)] <sup>2+</sup>	$\Lambda$ -[Ru(bpy) <sub>2</sub> ( <i>m</i> -hpip)] <sup>2+</sup>	$\Lambda$ -[Ru(bpy) <sub>2</sub> ( <i>p</i> -hphp)] <sup>2+</sup>
0	---	---	869.1352
1	884.5753	---	893.5542
2	873.1999	873.1683	844.2099
3	856.6098	863.0734	856.8091
4	857.8796	<b>858.2505</b>	837.3821
5	858.8523	860.9612	<b>835.9299</b>
6	862.6230	860.7854	849.2315
7	859.8736	861.4555	848.2963
8	859.7365	861.3789	848.6619
9	<b>851.5401</b>	859.9192	848.6697
10	---	---	849.3331

表 4-4  $\Delta$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup> [L=*o*-hpip, *m*-hpip, *p*-hphp]从小沟插入到 A4G4/A5T5 位点的能量值  
(单位: Kcal/mol)

	$\Delta$ -[Ru(bpy) <sub>2</sub> ( <i>o</i> -hpip)] <sup>2+</sup>	$\Delta$ -[Ru(bpy) <sub>2</sub> ( <i>m</i> -hpip)] <sup>2+</sup>	$\Delta$ -[Ru(bpy) <sub>2</sub> ( <i>p</i> -hphp)] <sup>2+</sup>
0	854.3985	852.0494	876.5393
1	877.5337	852.8309	843.5711
2	878.9556	851.1867	855.3753
3	852.2773	854.8980	852.3667
4	853.2654	857.3518	856.4892
5	850.9331	854.3394	862.3899
6	855.5741	846.2716	862.2932
7	848.6978	846.4364	854.2516
8	<b>842.0820</b>	846.2332	857.9056
9	843.0267	<b>840.6329</b>	848.0667
10	---	---	<b>840.1512</b>

表 4-5  $\Delta$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup> [L=*o*-hpip, *m*-hpip, *p*-hphp]从小沟插入到 A4G4/A5T5 位点的能量值  
(单位: Kcal/mol)

	$\Delta$ -[Ru(bpy) <sub>2</sub> ( <i>o</i> -hpip)] <sup>2+</sup>	$\Delta$ -[Ru(bpy) <sub>2</sub> ( <i>m</i> -hpip)] <sup>2+</sup>	$\Delta$ -[Ru(bpy) <sub>2</sub> ( <i>p</i> -hphp)] <sup>2+</sup>
0	860.2124	855.0067	855.6366
1	861.0832	854.3591	853.1056
2	862.8552	851.0775	855.8351
3	872.3639	856.3659	844.6864
4	854.7651	855.7952	846.0836
5	854.5632	856.9364	848.4318
6	960.8227	852.1998	861.1897
7	<b>849.8801</b>	850.0446	851.2424
8	857.7287	<b>846.7964</b>	855.9607
9	856.7738	858.3711	844.1158
10	--	--	<b>842.3491</b>

### 4.3.2 量子化学计算结果

经过 DFT 计算,  $\Delta$ ,  $\Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup> [L=*o*-hpip, *m*-hpip, *p*-hphp]在错配 DNA 的 A4G4/A5T5 位点, 分别从大沟和小沟插入的 12 个整体模型的精确能量如表 4-6, 表 4-7, 表 4-8, 表 4-9 所示。键合能量由如下方法计算得到:

$$E_{\text{binding}} = E_{\text{base}} + E_{\text{ligand}} - E_{\text{total}}$$

$E_{\text{total}}$  为配合物  $\Delta$ ,  $\Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup> 与相邻最近的上下各四个碱基的总能量,  $E_{\text{base}}$  为  $\Delta$ ,  $\Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup> 未插入时 A4G4/A5T5 位点共八个碱基的能量,  $E_{\text{ligand}}$  为  $\Delta$ ,  $\Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup> 最优化构型的能量,  $E_{\text{binding}}$  为键合能。

表 4-6  $\Delta$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup> 从大沟插入 A4G4/A5T5 位点的 DFT 精确能量

	$\Delta$ -[Ru(bpy) <sub>2</sub> ( <i>o</i> -hpip)] <sup>2+</sup>	$\Delta$ -[Ru(bpy) <sub>2</sub> ( <i>m</i> -hphp)] <sup>2+</sup>	$\Delta$ -[Ru(bpy) <sub>2</sub> ( <i>p</i> -hphp)] <sup>2+</sup>
$E_{\text{total}}$ (a.u.)	-10585.397464	-10585.352176	-10585.338608
$E_{\text{base}}$ (a.u.)	-8474.920899	-8474.920899	-8474.920899
$E_{\text{ligand}}$ (a.u.)	-2109.568899	-2109.574734	-2109.576694
$E_{\text{binding}}$ (a.u.)	0.907666	0.856542	0.841014
$E_{\text{binding}}$ (Kcal/mol)	569.568521	537.488065	527.744042

表 4-7  $\Delta$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup>从大沟插入 A4G4/A5T5 位点的 DFT 精确能量

	$\Delta$ -[Ru(bpy) <sub>2</sub> ( <i>o</i> -hpip)] <sup>2+</sup>	$\Delta$ -[Ru(bpy) <sub>2</sub> ( <i>m</i> -hpip)] <sup>2+</sup>	$\Delta$ -[Ru(bpy) <sub>2</sub> ( <i>p</i> -hphp)] <sup>2+</sup>
$E_{\text{total}}$ (a.u.)	-10585.338783	-10585.319371	-10585.252725
$E_{\text{base}}$ (a.u.)	-8474.920899	-8474.920899	-8474.920899
$E_{\text{ligand}}$ (a.u.)	-2109.568915	-2109.574734	-2109.576694
$E_{\text{binding}}$ (a.u.)	0.848968	0.823737	0.755132
$E_{\text{binding}}$ (Kcal/mol)	532.735249	516.902507	473.852189

 表 4-8  $\Delta$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup>从小沟插入 A4G4/A5T5 位点的 DFT 精确能量

	$\Delta$ -[Ru(bpy) <sub>2</sub> ( <i>o</i> -hpip)] <sup>2+</sup>	$\Delta$ -[Ru(bpy) <sub>2</sub> ( <i>m</i> -hpip)] <sup>2+</sup>	$\Delta$ -[Ru(bpy) <sub>2</sub> ( <i>p</i> -hphp)] <sup>2+</sup>
$E_{\text{total}}$ (a.u.)	-10585.554748	-10585.551848	-10585.544584
$E_{\text{base}}$ (a.u.)	-8474.920899	-8474.920899	-8474.920899
$E_{\text{ligand}}$ (a.u.)	-2109.568899	-2109.574734	-2109.576694
$E_{\text{binding}}$ (a.u.)	1.064950	1.056214	1.046991
$E_{\text{binding}}$ (Kcal/mol)	668.265772	662.783854	656.996213

 表 4-9  $\Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup>从小沟插入 A4G4/A5T5 位点的 DFT 精确能量

	$\Lambda$ -[Ru(bpy) <sub>2</sub> ( <i>o</i> -hpip)] <sup>2+</sup>	$\Lambda$ -[Ru(bpy) <sub>2</sub> ( <i>m</i> -hpip)] <sup>2+</sup>	$\Lambda$ -[Ru(bpy) <sub>2</sub> ( <i>p</i> -hphp)] <sup>2+</sup>
$E_{\text{total}}$ (a.u.)	-10585.593498	-10585.593499	-10585.592810
$E_{\text{base}}$ (a.u.)	-8474.920899	-8474.920899	-8474.920899
$E_{\text{ligand}}$ (a.u.)	-2109.568915	-2109.574734	-2109.576694
$E_{\text{binding}}$ (a.u.)	1.103684	1.097866	1.095217
$E_{\text{binding}}$ (Kcal/mol)	692.571329	688.920796	687.258524

### 4.3.3 分子对接结果

采用分子对接方法将  $\Delta, \Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup> [L=*o*-hpip, *m*-hpip, *p*-hphp]自动对接到错配 DNA 的 A4G4/A5T5 位点, 六个配合物在该位点的对接结合能如

表 4-10, 表 4-11, 表 4-12, 表 4-13, 表 4-14, 表 4-15 所示。其中,  $E_{\text{total}}$  为分子对接计算的结合能,  $E_{\text{vdw}}$  为范德华作用能,  $E_{\text{elect}}$  静电作用能,  $E_{\text{total}}=E_{\text{vdw}}+E_{\text{elect}}$ 。分子对接所得到的能量打分为负值, 绝对值越大, 结合能越大。

 表 4-10  $\Delta$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>(*o*-hpip)]<sup>2+</sup>在 A4G4/A5T5 位点分别从大、小沟插入的分子对接结果

	$\Delta$ -[Ru(bpy) <sub>2</sub> ( <i>o</i> -hpip)] <sup>2+</sup>	
	大沟	小沟
$E_{\text{total}}$ (Kcal/mol)	-66.3256	-68.9318
$E_{\text{vdw}}$ (Kcal/mol)	-39.8315	-40.3653

$E_{\text{elect}}(\text{Kcal/mol})$	-26.4941	-27.9665
-------------------------------------	----------	----------

表 4-11  $\Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>(*o*-hpip)]<sup>2+</sup> 在 A4G4/A5T5 位点分别从大、小沟插入的分子对接结果

$\Lambda$ -[Ru(bpy) <sub>2</sub> ( <i>o</i> -hpip)] <sup>2+</sup>		
	大沟	小沟
$E_{\text{total}}(\text{Kcal/mol})$	---	-68.0025
$E_{\text{vdw}}(\text{Kcal/mol})$	---	-49.1351
$E_{\text{elect}}(\text{Kcal/mol})$	---	-18.8674

表 4-12  $\Delta$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>(*m*-hpip)]<sup>2+</sup> 在 A4G4/A5T5 位点分别从大、小沟插入的分子对接结果

$\Delta$ -[Ru(bpy) <sub>2</sub> ( <i>m</i> -hpip)] <sup>2+</sup>		
	大沟	小沟
$E_{\text{total}}(\text{Kcal/mol})$	---	-67.0477
$E_{\text{vdw}}(\text{Kcal/mol})$	---	-42.8652
$E_{\text{elect}}(\text{Kcal/mol})$	---	-24.1825

表 4-13  $\Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>(*m*-hpip)]<sup>2+</sup> 在 A4G4/A5T5 位点分别从大、小沟插入的分子对接结果

$\Lambda$ -[Ru(bpy) <sub>2</sub> ( <i>m</i> -hpip)] <sup>2+</sup>		
	大沟	小沟
$E_{\text{total}}(\text{Kcal/mol})$	-64.1298	-69.8071
$E_{\text{vdw}}(\text{Kcal/mol})$	-37.0001	-47.0912
$E_{\text{elect}}(\text{Kcal/mol})$	-27.1297	-22.7159

表 4-14  $\Delta$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>(*p*-hpip)]<sup>2+</sup> 在 A4G4/A5T5 位点分别从大、小沟插入的分子对接结果

$\Delta$ -[Ru(bpy) <sub>2</sub> ( <i>p</i> -hpip)] <sup>2+</sup>		
	大沟	小沟
$E_{\text{total}}(\text{Kcal/mol})$	---	-70.0489
$E_{\text{vdw}}(\text{Kcal/mol})$	---	-49.1801
$E_{\text{elect}}(\text{Kcal/mol})$	---	-20.8688



表 4-15  $\Delta$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>(*p*-hPIP)]<sup>2+</sup> 在 A4G4/A5T5 位点分别从大、小沟插入的分子对接结果

	$\Delta$ -[Ru(bpy) <sub>2</sub> ( <i>p</i> -hPIP)] <sup>2+</sup>	
	大沟	小沟
$E_{\text{total}}$ (Kcal/mol)	-68.0760	-76.9583
$E_{\text{vdw}}$ (Kcal/mol)	-39.1193	-53.3548
$E_{\text{elect}}$ (Kcal/mol)	-28.9567	-23.6035

## 4.4 $\Delta$ , $\Delta$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup> 的 DNA 键合倾向和相关性质

### 4.4.1 分子内氢键对键合规律的影响

本课题组已在 2003 年报道了单独对 [Ru(bpy)<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup> [L=*o*-hPIP, *m*-hPIP, *p*-hPIP] 系列配合物进行 DFT 计算的部分计算结果<sup>[119]</sup>, 计算结果显示这三个配合物的最低空轨道 LUMO 的能量次序为:  $\epsilon_{\text{LUMO}}([\text{Ru}(\text{bpy})_2(\textit{o}\text{-hPIP})]^{2+}) < \epsilon_{\text{LUMO}}([\text{Ru}(\text{bpy})_2(\textit{m}\text{-hPIP})]^{2+}) < \epsilon_{\text{LUMO}}([\text{Ru}(\text{bpy})_2(\textit{p}\text{-hPIP})]^{2+})$ 。并且由计算得到的几何结构可知, [Ru(bpy)<sub>2</sub>(*o*-hPIP)]<sup>2+</sup> 主配体上的 OH 与主配体的母体 pip 的 N 形成分子内氢键, 使得 pip 与 OH 形成平面性更好的共轭平面。解释了该系列配合物的 DNA 键合常数规律:

$$K_b([\text{Ru}(\text{bpy})_2(\textit{o}\text{-hPIP})]^{2+}) > K_b([\text{Ru}(\text{bpy})_2(\textit{m}\text{-hPIP})]^{2+}) > K_b([\text{Ru}(\text{bpy})_2(\textit{p}\text{-hPIP})]^{2+})$$

从 DFT 精确能量计算结果可以看出, 在错配 DNA 的 A4G4/A5T5 位点,  $\Delta$ , $\Delta$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup> 与 DNA 键合强度具有很好的规律性。 $\Delta$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>(*o*-hPIP)]<sup>2+</sup>,  $\Delta$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>(*m*-hPIP)]<sup>2+</sup> 和  $\Delta$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>(*p*-hPIP)]<sup>2+</sup> 三个配合物, 同为右旋, 主配体同为 hPIP, 但羟基在主配体上不同位置上。这三个配合物从大沟插入时, 与 DNA 的键合能  $E_{\text{binding}}$  分别为 569.568521Kcal/mol, 537.488065Kcal/mol, 527.744042 Kcal/mol, 与 DNA 作用的键合能倾向为:

$$E_{\text{binding}}(\Delta\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\textit{o}\text{-hPIP})]^{2+}) > E_{\text{binding}}(\Delta\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\textit{m}\text{-hPIP})]^{2+}) > E_{\text{binding}}(\Delta\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\textit{p}\text{-hPIP})]^{2+})$$

当从小沟插入时, 与 DNA 的键合能  $E_{\text{binding}}$  分别为 668.265772Kcal/mol, 662.783854 Kcal/mol, 656.996213Kcal/mol, 也存在相同的键合能倾向:

$$E_{\text{binding}}(\Delta\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\textit{o}\text{-hPIP})]^{2+}) > E_{\text{binding}}(\Delta\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\textit{m}\text{-hPIP})]^{2+}) >$$

$E_{\text{binding}}(\Delta\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(o\text{-hPIP})]^{2+})$

$\Lambda\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(o\text{-hPIP})]^{2+}$ ,  $\Lambda\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(m\text{-hPIP})]^{2+}$ 和  $\Lambda\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(p\text{-hPIP})]^{2+}$ , 这三个左旋异构体从大沟插入时, 与 DNA 的键合能  $E_{\text{binding}}$  分别为 532.735249 Kcal/mol, 516.902507Kcal/mol, 473.852189 Kcal/mol, 与 DNA 作用的键合能倾向为:

$$E_{\text{binding}}(\Lambda\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(o\text{-hPIP})]^{2+}) > E_{\text{binding}}(\Lambda\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(m\text{-hPIP})]^{2+}) > E_{\text{binding}}(\Lambda\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(p\text{-hPIP})]^{2+})$$

这三个左旋异构体从小沟插入时, 与 DNA 的键合能  $E_{\text{binding}}$  分别为 692.571329Kcal/mol, 688.920796Kcal/mol, 687.258524Kcal/mol, 与 DNA 作用的键合能倾向为:

$$E_{\text{binding}}(\Lambda\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(o\text{-hPIP})]^{2+}) > E_{\text{binding}}(\Lambda\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(m\text{-hPIP})]^{2+}) > E_{\text{binding}}(\Lambda\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(p\text{-hPIP})]^{2+})$$

由此可见, 对于  $\Delta, \Lambda\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{L}]^{2+}$  [L=*o*-hPIP, *m*-hPIP, *p*-hPIP]系列配合物, 无论在大沟或从小沟插入, 键合常数  $K_b$  均有下列倾向:

$$K_b([\text{Ru}(\text{bpy})_2(o\text{-hPIP})]^{2+}) > K_b([\text{Ru}(\text{bpy})_2(m\text{-hPIP})]^{2+}) > K_b([\text{Ru}(\text{bpy})_2(p\text{-hPIP})]^{2+})$$

实验测得  $\Delta\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{L}]^{2+}$  [L=*o*-hPIP, *m*-hPIP, *p*-hPIP] 的键合常数分别为  $6.8 \times 10^5 \text{M}^{-1}$ ,  $1.5 \times 10^5 \text{M}^{-1}$ ,  $1.0 \times 10^5 \text{M}^{-1}$ 。  $\Lambda\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{L}]^{2+}$  的键合常数  $K_b$  分别为  $5.3 \times 10^5 \text{M}^{-1}$ ,  $1.0 \times 10^5 \text{M}^{-1}$ ,  $0.7 \times 10^5 \text{M}^{-1}$ , 理论计算的键合常数  $E_{\text{binding}}$  和实验得到的键合常数  $K_b$  非常吻合, 如

表 4-16, 表 4-17 所示。  $\Delta, \Lambda\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(o\text{-hPIP})]^{2+}$  键合到 A4G4/A5T5 位点的构象如图 4-2 所示,  $\Delta, \Lambda\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(m\text{-hPIP})]^{2+}$  和  $\Delta, \Lambda\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(p\text{-hPIP})]^{2+}$  键合到 A4G4/A5T5 位点的构象分别如图 4-3, 图 4-4 所示。从可以看出, 在主配体 *o*-hPIP 中, 分子内氢键作用扩大了配体的平面性, 更有利于与 DNA 碱基之间的  $\pi\text{-}\pi$  作用, 因而  $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(o\text{-hPIP})]^{2+}$  与 DNA 的键合作用强度最大。

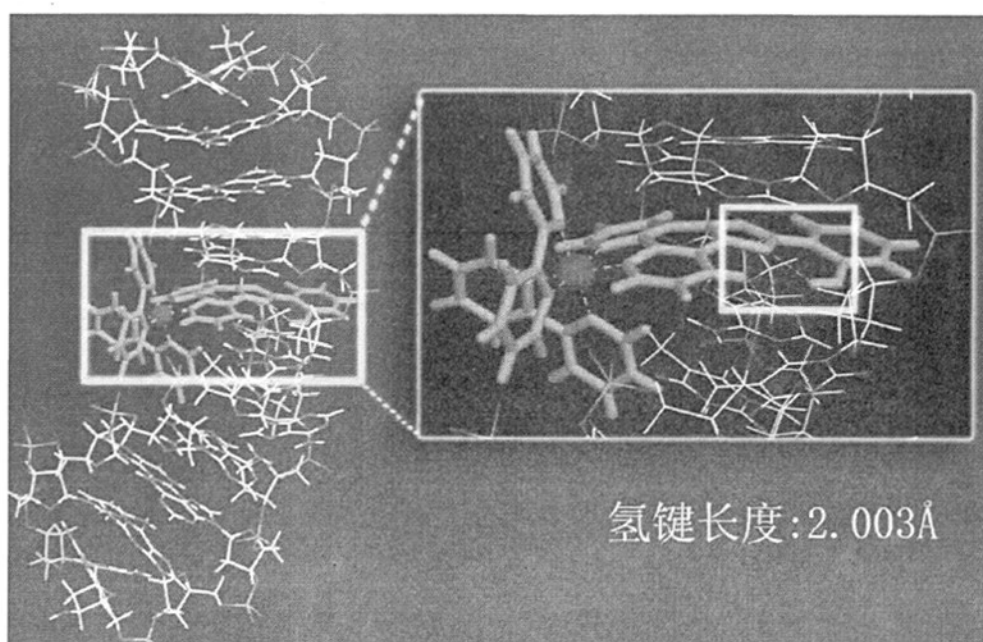
表 4-16  $\Delta\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{L}]^{2+}$  的实验键合常数和理论计算键合能

	$K_b, (10^5 \text{M}^{-1})$	$E_{\text{binding}}$ (Major Groove), $E_{\text{binding}}$ (Minor Groove),	
		(Kcal/mol)	(Kcal/mol)
$\Delta\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(o\text{-hPIP})]^{2+}$	6.8	569.5685	668.2658
$\Delta\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(m\text{-hPIP})]^{2+}$	1.5	536.2582	662.7839

$\Delta$ - [Ru(bpy) <sub>2</sub> ( <i>p</i> -hPIP)] <sup>2+</sup>	1.0	528.9738	656.9962
---	-----	----------	----------

 表 4-17  $\Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup> 的实验键合常数和理论计算键合能

	$K_b$ ( $10^5 M^{-1}$ )	$E_{\text{binding}}$ (Major Groove), (Kcal/mol)	$E_{\text{binding}}$ (Minor Groove), (Kcal/mol)
$\Lambda$ - [Ru(bpy) <sub>2</sub> ( <i>o</i> -hPIP)] <sup>2+</sup>	5.3	529.0838	692.5713
$\Lambda$ - [Ru(bpy) <sub>2</sub> ( <i>m</i> -hPIP)] <sup>2+</sup>	1.0	520.5540	688.9208
$\Lambda$ - [Ru(bpy) <sub>2</sub> ( <i>p</i> -hPIP)] <sup>2+</sup>	0.7	473.8522	687.2585


 图 4-2(a)  $\Delta$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>(*o*-hPIP)]<sup>2+</sup> 从大沟键合到 A4G4/A5T5 位点的构象

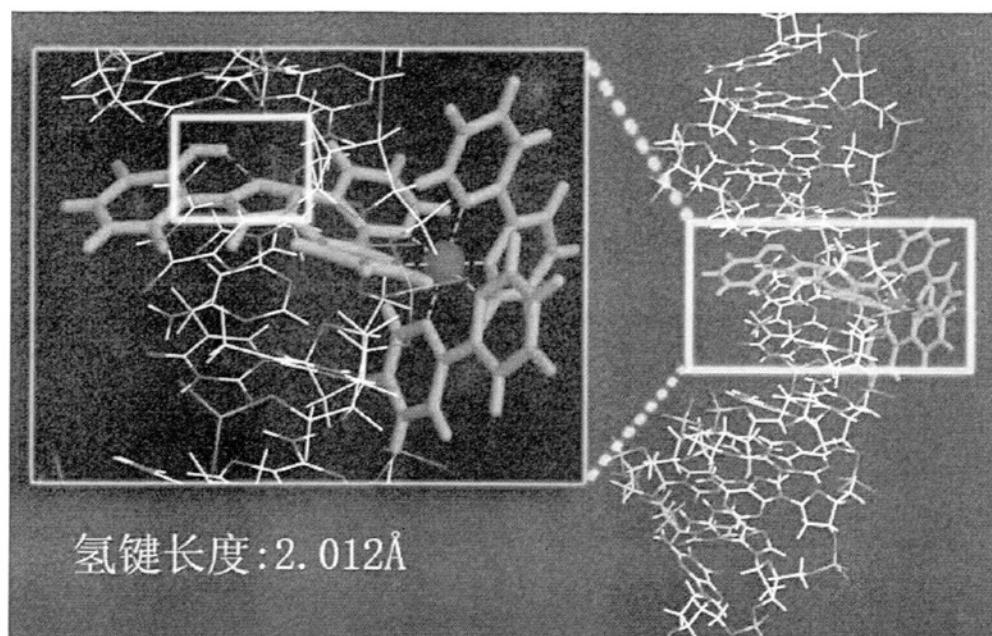


图 4-2(b)  $\Delta$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>(*o*-hpi)]<sup>2+</sup>从小沟键合到 A4G4/A5T5 位点的构象

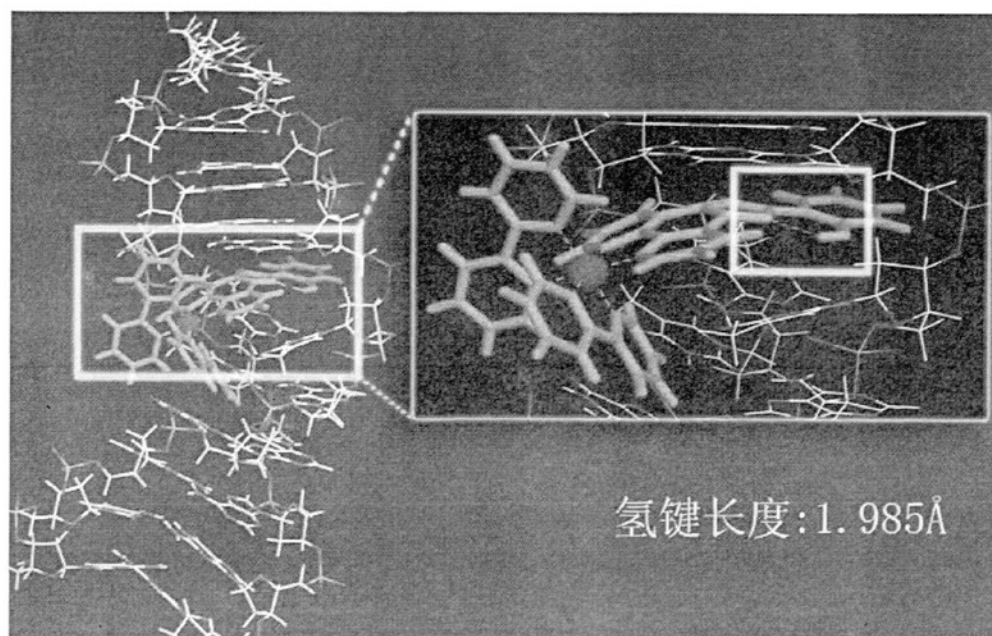


图 4-2(c)  $\Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>(*o*-hpi)]<sup>2+</sup>从大沟键合到 A4G4/A5T5 位点的构象

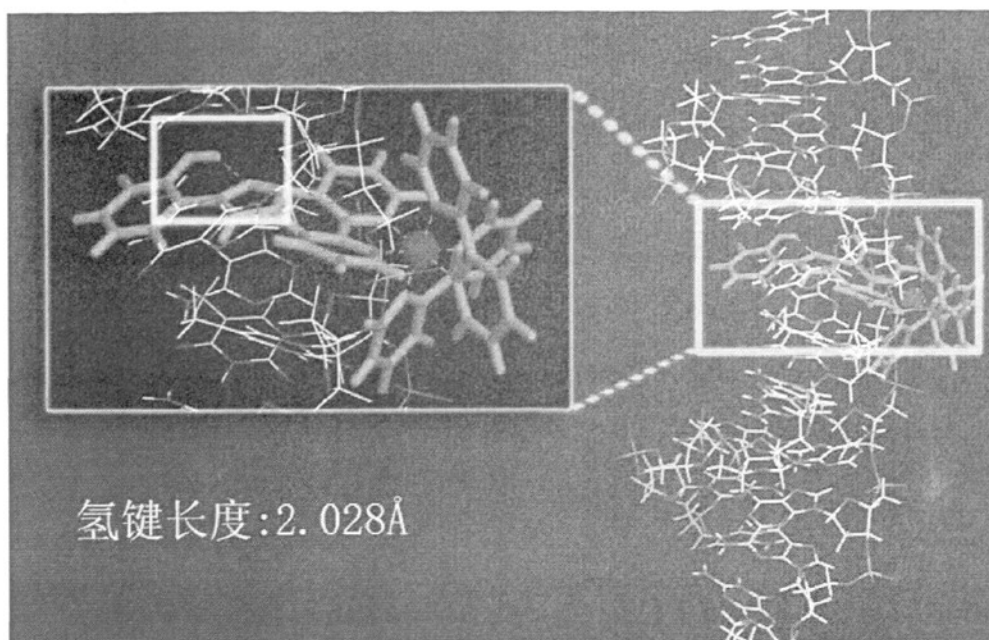


图 4-2(d)  $\Delta$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>(*o*-hpip)]<sup>2+</sup> 从小沟键合到 A4G4/A5T5 位点的构象

图 4-2

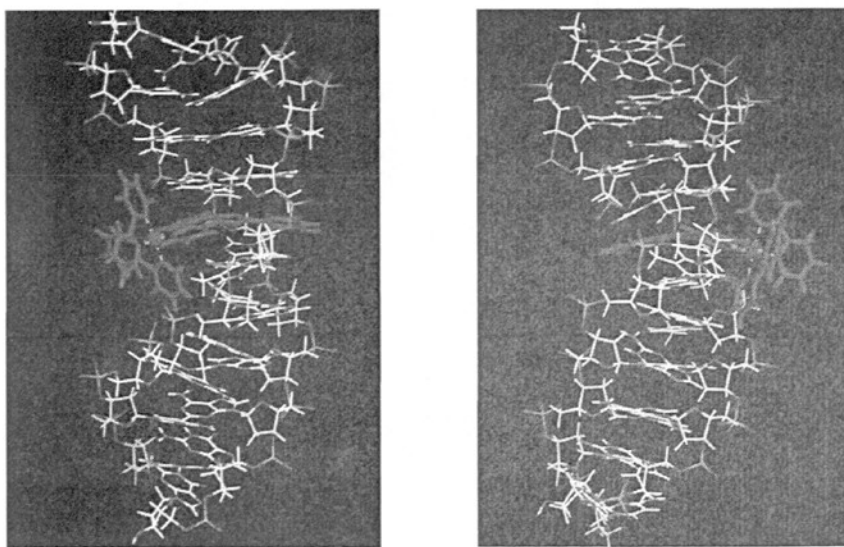


图 4-3(a,b)  $\Delta$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>(*m*-hpip)]<sup>2+</sup> 键合到 A4G4/A5T5 位点的构象

(a) 从大沟键合, (b) 从小沟键合

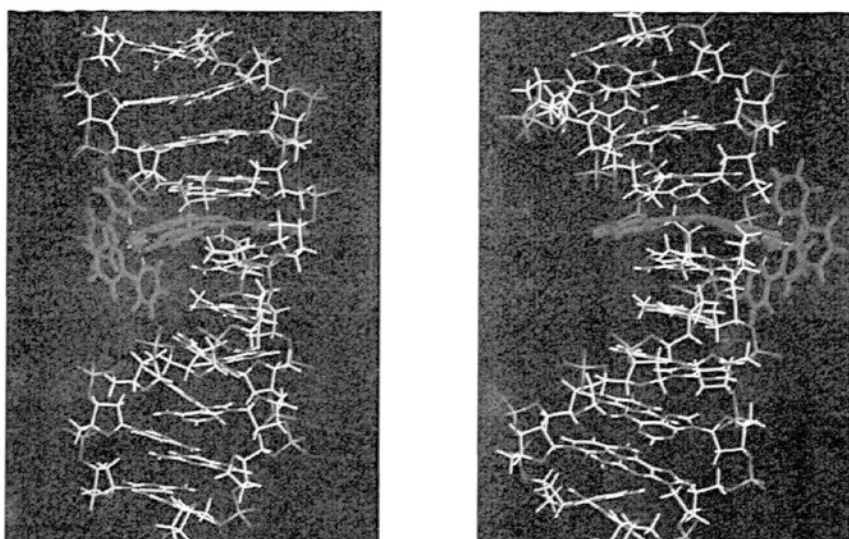


图 4-3(c,d)  $\Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>(*m*-hpic)]<sup>2+</sup> 键合到 A4G4/A5T5 位点的构象

(c) 从大沟键合, (d) 从小沟键合

图 4-3

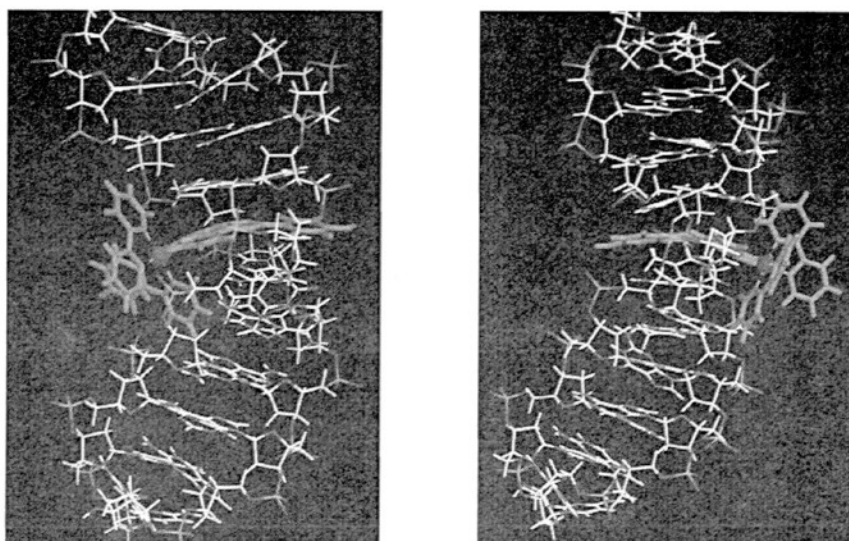


图 4-4(a,b)  $\Delta$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>(*p*-hpic)]<sup>2+</sup> 键合到 A4G4/A5T5 位点的构象

(a) 从大沟键合, (b) 从小沟键合

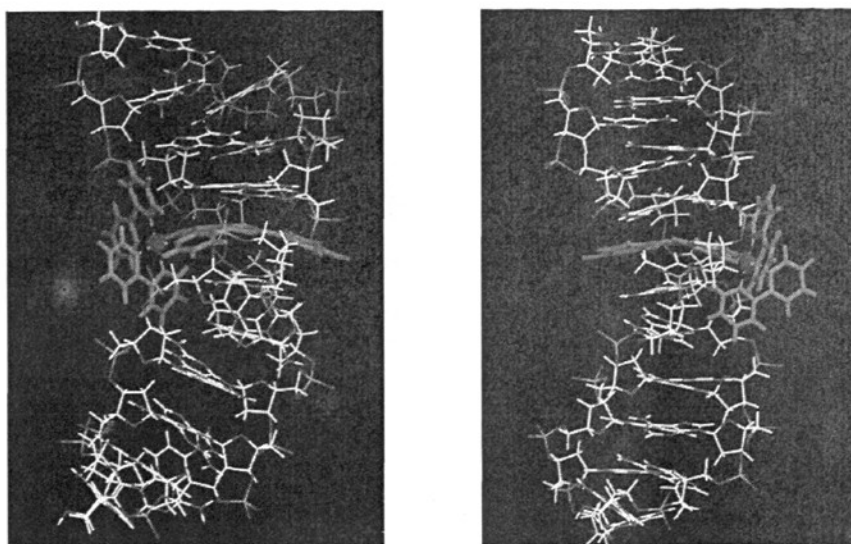


图 4-4(c,d)  $\Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>(*m*-hpip)]<sup>2+</sup> 键合到 A4G4/A5T5 位点的构象

(b) 从大沟键合, (d) 从小沟键合

图 4-4

#### 4.4.2 $\Delta, \Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup> 与 DNA 键合的沟选择性

$\Delta, \Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup> [L=*o*-hpip, *m*-hpip, *p*-hphp] 系列配合物分别从大沟, 小沟键合到 A4G4/A5T5 位点的键合能比较如图 4-5, 图 4-6, 图 4-7 所示

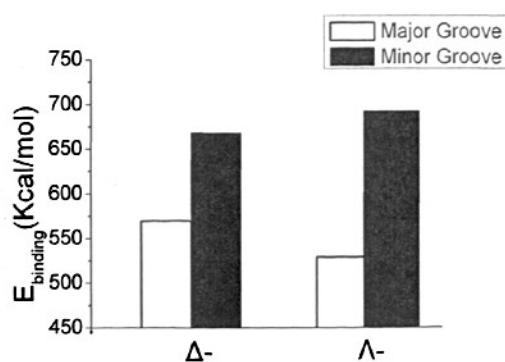


图 4-5  $\Delta, \Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>(*o*-hpip)]<sup>2+</sup> 分别从大沟, 小沟键合到 A4G4/A5T5 位点的键合能比较

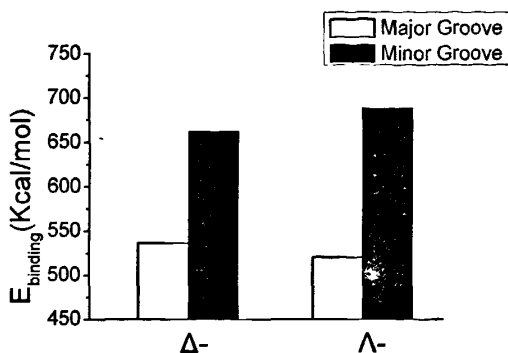


图 4-6  $\Delta$ 、 $\Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>(*m*-hPIP)]<sup>2+</sup> 分别从小沟，大沟键合到 A4G4/A5T5 位点的键合能比较

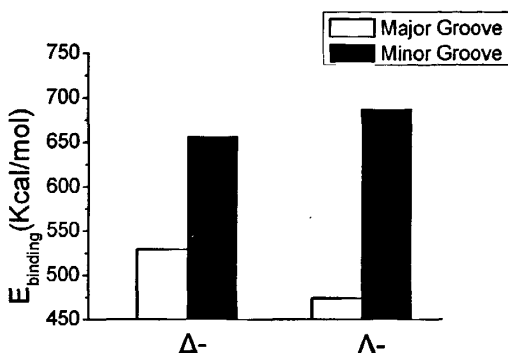


图 4-7  $\Delta$ 、 $\Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>(*p*-hPIP)]<sup>2+</sup> 分别从小沟，大沟键合到 A4G4/A5T5 位点的键合能比较

从图中可以看出，对于  $\Delta$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>(*o*-hPIP)]<sup>2+</sup>，从小沟插入的键合能均比从大沟插入的键合能高大约 100Kcal/mol；对于  $\Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>(*o*-hPIP)]<sup>2+</sup>，从小沟插入的键合能均比从大沟插入的键合能高约 160Kcal/mol。对于  $\Delta$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>(*m*-hPIP)]<sup>2+</sup>，从小沟插入的键合能均比从大沟插入的键合能高大约 120Kcal/mol；对于  $\Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>(*m*-hPIP)]<sup>2+</sup>；从小沟插入的键合能均比从大沟插入的键合能高约 160Kcal/mol。对于  $\Delta$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>(*p*-hPIP)]<sup>2+</sup>，从小沟插入的键合能均比从大沟插入的键合能高大约 130Kcal/mol；对于  $\Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>(*p*-hPIP)]<sup>2+</sup>，从小沟插入的键合能均比从大沟插入的键合能高约 210Kcal/mol。这说明，该系列配合物优先从小沟键合到错配 DNA 的 A4G4/A5T5 位点。



### 4.4.3 $\Delta, \Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup> 与 DNA 键合的手性选择性

$\Delta, \Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup> [L=*o*-hpip, *m*-hpip, *p*-hphp] 系列配合物从大沟键合到 A4G4/A5T5 位点的键合能比较如图 4-8 所示, 该系列配合物从小沟键合到 A4G4/A5T5 位点的键合能比较如图 4-9 所示,

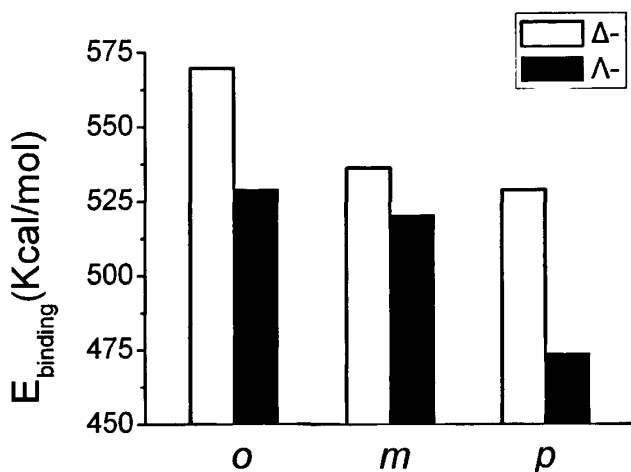


图 4-8  $\Delta, \Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup> [L=*o*-hpip, *m*-hpip, *p*-hphp] 从大沟键合到 A4G4/A5T5 位点的键合能比较。*o* 代表  $\Delta, \Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>(*o*-hpip)]<sup>2+</sup>, *m* 代表  $\Delta, \Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>(*m*-hpip)]<sup>2+</sup>, *p* 代表  $\Delta, \Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>(*p*-hphp)]<sup>2+</sup>

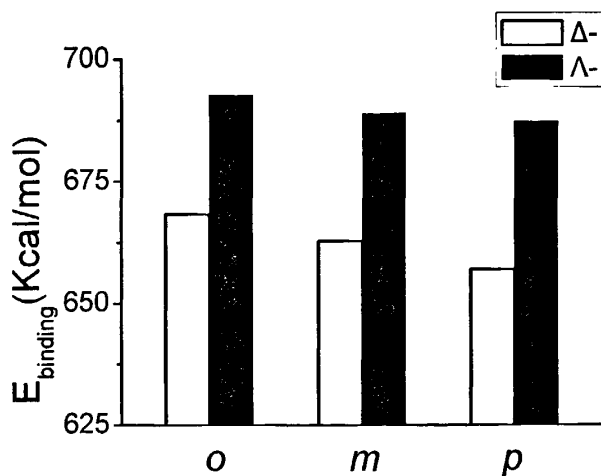


图 4-9  $\Delta, \Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup> [L=*o*-hpip, *m*-hpip, *p*-hphp] 从小沟键合到 A4G4/A5T5 位点的键合能比较。*o* 代表  $\Delta, \Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>(*o*-hpip)]<sup>2+</sup>, *m* 代表  $\Delta, \Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>(*m*-hpip)]<sup>2+</sup>, *p* 代表  $\Delta, \Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>(*p*-hphp)]<sup>2+</sup>

从图中可以看出, 当  $\Delta, \Lambda\text{-[Ru(bpy)}_2\text{L)]}^{2+}$  系列配合物从大沟插入到错配 DNA 的 A4G4/A5T5 位点时, 右旋异构体比左旋异构体的键合能大, 即

$$E_{\text{binding}}(\Delta\text{-[Ru(bpy)}_2(o\text{-hpip})]^{2+}@major) > E_{\text{binding}}(\Lambda\text{-[Ru(bpy)}_2(o\text{-hpip})]^{2+}@major)$$

$$E_{\text{binding}}(\Delta\text{-[Ru(bpy)}_2(m\text{-hpip})]^{2+}@major) > E_{\text{binding}}(\Lambda\text{-[Ru(bpy)}_2(m\text{-hpip})]^{2+}@major)$$

$$E_{\text{binding}}(\Delta\text{-[Ru(bpy)}_2(p\text{-hpip})]^{2+}@major) > E_{\text{binding}}(\Lambda\text{-[Ru(bpy)}_2(p\text{-hpip})]^{2+}@major)。$$

而当  $\Delta, \Lambda\text{-[Ru(bpy)}_2\text{L)]}^{2+}$  系列配合物从小沟插入到错配 DNA 的 A4G4/A5T5 位点时, 左旋异构体比右旋异构体的键合能大, 即

$$E_{\text{binding}}(\Lambda\text{-[Ru(bpy)}_2(o\text{-hpip})]^{2+}@minor) > E_{\text{binding}}(\Delta\text{-[Ru(bpy)}_2(o\text{-hpip})]^{2+}@minor)$$

$$E_{\text{binding}}(\Lambda\text{-[Ru(bpy)}_2(m\text{-hpip})]^{2+}@minor) > E_{\text{binding}}(\Delta\text{-[Ru(bpy)}_2(m\text{-hpip})]^{2+}@minor)$$

$$E_{\text{binding}}(\Lambda\text{-[Ru(bpy)}_2(p\text{-hpip})]^{2+}@minor) > E_{\text{binding}}(\Delta\text{-[Ru(bpy)}_2(p\text{-hpip})]^{2+}@minor)。$$

这种手性选择性可能是由于  $\Delta, \Lambda\text{-[Ru(bpy)}_2\text{L)]}^{2+}$  系列配合物的两个辅助配体与错配 DNA 的相互作用引起的。因错配 DNA 为 B 型 DNA, 磷酸骨架为右手螺旋, 当右旋  $\Delta\text{-[Ru(bpy)}_2\text{L)]}^{2+}$  系列配合物从大沟插入到错配 DNA 的 A4G4/A5T5 位点时, 右旋  $\Delta\text{-[Ru(bpy)}_2\text{L)]}^{2+}$  系列配合物正好和错配 DNA 的磷酸骨架相吻合。而从小沟插入到 A4G4/A5T5 位点时, 由于小沟比大沟窄, 磷酸骨架之间的空间无法容纳两个 bpy 辅助配体, 从而产生较大的空间位阻。

如前章所述, 错配 DNA 的磷酸骨架在 A4G4/A5T5 位点的小沟方向有特殊的扭曲, 从而形成一个拱门状的弯曲, 如图 4-10 所示。这个特殊的拱门状弯曲成为左旋  $\Lambda\text{-[Ru(bpy)}_2\text{L)]}^{2+}$  系列配合物优先从小沟插入的主要原因。左旋  $\Lambda\text{-[Ru(bpy)}_2\text{L)]}^{2+}$  系列配合物从小沟方向插入时, 两个 bpy 辅助配体正好与该拱门状弯曲的凹陷部分吻合, 空间位阻较小, 如图 4-11 所示。而左旋  $\Lambda\text{-[Ru(bpy)}_2\text{L)]}^{2+}$  系列配合物从大沟插入时, 与磷酸骨架有明显的碰撞。

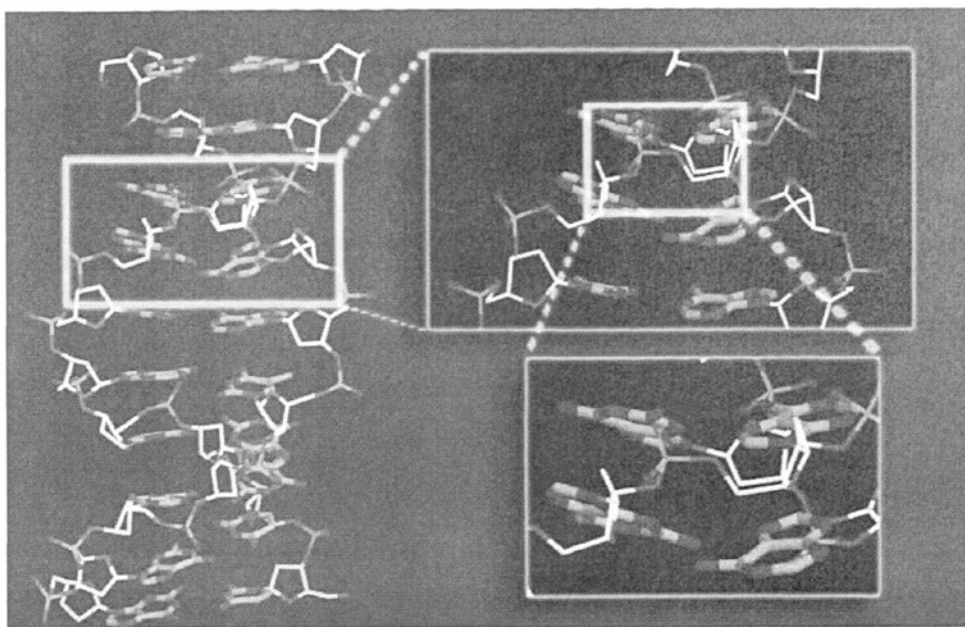
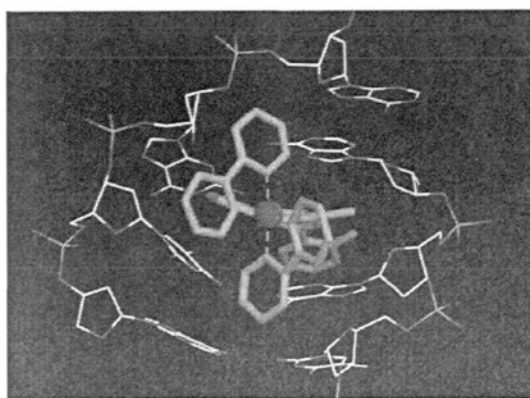
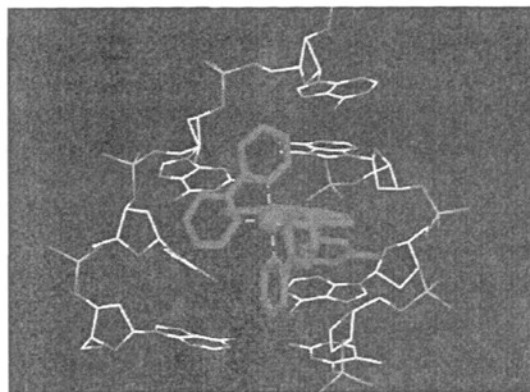


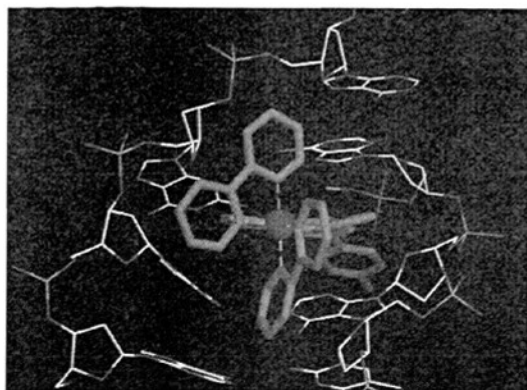
图 4-10 错配 DNA 磷酸骨架在 A4G4/A5T5 位点的小沟方向形成的拱门状弯曲



(a)



(b)



(c)

图 4-11 (a, b, c).  $\Lambda$ - $[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{L}]^{2+}$  [ $\text{L}=\text{o-hpip}, \text{m-hpip}, \text{p-hpip}$ ]从小沟键合到 A4G4/A5T5 位点的构象。图中为配合物以及其附近 8Å 的 DNA 序列，左旋  $\Lambda$ - $[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{L}]^{2+}$  系列配合物从小沟方向插入时，两个 bpy 辅助配体正好与该拱门状弯曲的凹陷部分吻合。

(a)  $\Lambda$ - $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{o-hpip})]^{2+}$ 从小沟键合到 A4G4/A5T5 位点的构象。

(b)  $\Lambda$ - $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{m-hpip})]^{2+}$ 从小沟键合到 A4G4/A5T5 位点的构象。

(c)  $\Lambda$ - $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{p-hpip})]^{2+}$ 从小沟键合到 A4G4/A5T5 位点的构象。

在错配 DNA 的其他碱基位点，手性选择性可能不太明显，而在 A4G4/A5T5 位点，由于拱门状磷酸骨架弯曲的存在，手性选择性表现得相当明显。在大沟插入时， $\Delta$ - $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{o-hpip})]^{2+}$ 的键合能比  $\Lambda$ - $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{o-hpip})]^{2+}$ 高约 40Kcal/mol， $\Delta$ - $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{m-hpip})]^{2+}$ 和  $\Delta$ - $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{p-hpip})]^{2+}$ 分别比他们的左旋异构体的键合能高大约 16Kcal/mol 和 50Kcal/mol。在小沟插入时，左旋  $\Lambda$ - $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{o-hpip})]^{2+}$ ， $\Lambda$ - $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{m-hpip})]^{2+}$ 和  $\Lambda$ - $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{p-hpip})]^{2+}$ 分别比他们的右旋异构体的键合能高大约 25Kcal/mol，26Kcal/mol 和 30Kcal/mol。

#### 4.4.4 分子对接结果初步探讨

从分子对接结果可以看出， $\Delta, \Lambda$ - $[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{L}]^{2+}$  [ $\text{L}=\text{o-hpip}, \text{m-hpip}, \text{p-hpip}$ ]六个配合物均能从小沟方向自动对接到错配 DNA 的 A4G4/A5T5 位点。其中， $\Delta$ - $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{o-hpip})]^{2+}$ ， $\Lambda$ - $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{m-hpip})]^{2+}$ 和  $\Lambda$ - $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{p-hpip})]^{2+}$ ，能从大沟方向自动对接到错配 DNA 的 A4G4/A5T5 位点，但能量打分均比从小沟方向对接的能量打分高。 $\Lambda$ - $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{o-hpip})]^{2+}$ ， $\Delta$ - $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{m-hpip})]^{2+}$ 和

$\Delta$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>(*p*-hPIP)]<sup>2+</sup>不能从大沟方向自动对接到错配 DNA 的 A4G4/A5T5 位点。这说明,  $\Delta, \Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup> [L=*o*-hPIP, *m*-hPIP, *p*-hPIP]更倾向于从小沟方向对接到错配 DNA 的 A4G4/A5T5 位点。

## 4.5 本章小结

本章在分子探针 [Ru(phen)<sub>2</sub>(dppz)]<sup>2+</sup> 特异识别的错配 DNA 序列 d(CCGAATGAGG)<sub>2</sub> 中的 A4G4/A5T5 位点, 考察  $\Delta, \Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup> [L=*o*-hPIP, *m*-hPIP, *p*-hPIP]系列配合物的 DNA 键合规律性。本章模拟了  $\Delta, \Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup> [L=*o*-hPIP, *m*-hPIP, *p*-hPIP]共六个配合物从 A4G4/A5T5 位点键合到与错配 DNA 的整体模型, 用分子力学 (MM2)、量子化学 (DFT) 和分子对接(Docking)相结合的方法研究其与错配 DNA 的作用规律, 研究了主配体 hPIP 上羟基的不同位置, 以及分子内氢键对 DNA 键合性质的影响, 并探讨了该系列配合物与 DNA 键合的大小沟选择性, 手性选择性, 结合能量以及详细键合构象。结论如下:

1. 在分子探针特异性识别的错配 DNA 的 A4G4/A5T5 位点, 通过分子力学、量子化学和分子对接相结合的方法, 研究  $\Delta, \Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup> [L=*o*-hPIP, *m*-hPIP, *p*-hPIP]与错配 DNA 键合的规律性, 发现上述具有手性异构的六个配合物均能以插入的方式键合到错配 DNA 的 A4G4/A5T5 位点中。

2. DFT 精确能量计算结果表明,  $\Delta, \Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup> [L=*o*-hPIP, *m*-hPIP, *p*-hPIP]系列配合物与错配 DNA 作用的键合能倾向为:

$$\begin{aligned}
 E_{\text{binding}}(\Delta\text{-[Ru(bpy)}_2\text{(}o\text{-hPIP)}\text{)]}^{2+} &> E_{\text{binding}}(\Delta\text{-[Ru(bpy)}_2\text{(}m\text{-hPIP)}\text{)]}^{2+} > \\
 E_{\text{binding}}(\Delta\text{-[Ru(bpy)}_2\text{(}p\text{-hPIP)}\text{)]}^{2+}; & \\
 E_{\text{binding}}(\Lambda\text{-[Ru(bpy)}_2\text{(}o\text{-hPIP)}\text{)]}^{2+} &> E_{\text{binding}}(\Lambda\text{-[Ru(bpy)}_2\text{(}m\text{-hPIP)}\text{)]}^{2+} > \\
 E_{\text{binding}}(\Lambda\text{-[Ru(bpy)}_2\text{(}p\text{-hPIP)}\text{)]}^{2+} &
 \end{aligned}$$

该理论计算结果和实验所得到的键合常数相吻合。在  $\Delta, \Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>(*o*-hPIP)]<sup>2+</sup> 在主配体 *o*-hPIP 中, 分子内氢键作用扩大了配体的平面性, 更有利于与 DNA 碱基之间的  $\pi$ - $\pi$  作用, 因而  $\Delta, \Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>(*o*-hPIP)]<sup>2+</sup> 与 DNA 的键合作用强度最大。

3.  $\Delta, \Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup> [L=*o*-hPIP, *m*-hPIP, *p*-hPIP]的每一个异构体分别从大、小沟插入到 A4G4/A5T5 位点时, 从小沟插入的键合能均比从大沟插入的大

100Kcal/mol 以上, 说明该系列配合物具有明显小沟选择性。

4. 比较  $\Delta, \Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup> [L=*o*-hpip, *m*-hpip, *p*-hphp] 系列配合物同从小沟方向插入的键合能发现, 左旋异构体比右旋异构体的键合能的大; 同在大沟方向插入时, 右旋异构体比左旋异构体的键合能的大。由于错配 DNA 的磷酸骨架在 A4G4/A5T5 位点的小沟方向形成一个拱门状的弯曲, 其凹陷部位正好与左旋  $\Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup> 的两个 bpy 辅助配体空间上吻合, 所以在 A4G4/A5T5 位点的小沟方向键合时, 表现出左旋手性选择性。而从大沟插入到 A4G4/A5T5 位点时, 磷酸骨架螺旋方向正好和右旋  $\Delta$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup> 系列配合物相吻合, 空间位阻较小, 所以在 A4G4/A5T5 位点的大沟方向键合时, 表现出右旋手性选择性。

5. 分子对接结果表明,  $\Delta, \Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup> [L=*o*-hpip, *m*-hpip, *p*-hphp] 六个配合物均能从小沟方向自动对接到错配 DNA 的 A4G4/A5T5 位点。而从大沟方向自动对接到错配 DNA 的 A4G4/A5T5 位点存在一定困难, 分子对接的结果进一步支持了该系列配合物优先从小沟方向键合到错配 DNA 的 A4G4/A5T5 位点。

## 总结与展望

### 一、总结

本文选用钌(II)多吡啶类配合物  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$  分子探针, 模拟了  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$  分子探针与错配 DNA 的整体模型, 用分子力学 (MM2)、量子化学 (DFT) 和分子对接 (Docking) 相结合的方法研究其与错配 DNA 的作用规律。探讨了  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$  分子探针对错配 DNA 的碱基对识别规律、大小沟插入选择性、各个碱基对位点的结合能量以及作用构象。在此基础上, 选择  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$  分子探针特异识别的碱基对位点, 研究  $\Delta, \Lambda$ - $[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{L}]^{2+}$  [ $\text{L}=\text{o-hpip}, \text{m-hpip}, \text{p-hphp}$ ] 系列配合物的大小沟插入选择性、手性选择性、结合能量和作用构象, 并研究主配体上取代基的不同位置和分子内氢键对错配 DNA 键合性质的影响。得到如下结论:

1.  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$  分子探针以插入方式键合到 DNA 碱基序列时, 能插入到 DNA 的错配碱基对中, 而不能插入到正常配对的碱基对中。当  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$  分子探针以插入方式键合到 DNA 各个错配的碱基对中时, 优先识别 A4G4/A5T5 错配碱基对。在错配的 A4G4/A5T5 位点,  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$  优先从小沟方向插入。

2. 在分子探针  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$  特异性识别的 A4G4/A5T5 位点, 通过分子力学、量子化学和分子对接相结合的方法, 研究  $\Delta, \Lambda$ - $[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{L}]^{2+}$  [ $\text{L}=\text{o-hpip}, \text{m-hpip}, \text{p-hphp}$ ] 与错配 DNA 键合的规律性, 发现上述具有手性异构的六个配合物均能以插入的方式键合到错配 DNA 的 A4G4/A5T5 位点中。

3.  $\Delta, \Lambda$ - $[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{L}]^{2+}$  [ $\text{L}=\text{o-hpip}, \text{m-hpip}, \text{p-hphp}$ ] 系列配合物与错配 DNA 作用的键合能倾向为:

$$\begin{aligned}
 E_{\text{binding}}(\Delta\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{o-hpip})]^{2+}) &> E_{\text{binding}}(\Delta\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{m-hpip})]^{2+}) > \\
 E_{\text{binding}}(\Delta\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{p-hpip})]^{2+}); & \\
 E_{\text{binding}}(\Lambda\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{o-hpip})]^{2+}) &> E_{\text{binding}}(\Lambda\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{m-hpip})]^{2+}) > \\
 E_{\text{binding}}(\Lambda\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{p-hpip})]^{2+}) &
 \end{aligned}$$

该理论计算结果和实验所得到的键合常数相吻合。在  $\Delta, \Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>(*o*-hpip)]<sup>2+</sup> 在主配体 *o*-hpip 中, 分子内氢键作用扩大了配体的平面性, 更有利于与 DNA 碱基之间的  $\pi$ - $\pi$  作用, 因而  $\Delta, \Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>(*o*-hpip)]<sup>2+</sup> 与 DNA 的键合作用强度最大。

4.  $\Delta, \Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup> [L=*o*-hpip, *m*-hpip, *p*-hphp] 系列配合物键合到错配 DNA 的 A4G4/A5T5 位点时, 具有明显小沟选择性。 $\Delta, \Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup> [L=*o*-hpip, *m*-hpip, *p*-hphp] 系列配合物在 A4G4/A5T5 位点的小沟方向键合时, 表现出左旋手性选择性。在 A4G4/A5T5 位点的大沟方向键合时, 表现出右旋手性选择性。

5. 对于分子探针 [Ru(phen)<sub>2</sub>(dppz)]<sup>2+</sup> 以及  $\Delta, \Lambda$ -[Ru(bpy)<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup> [L=*o*-hpip, *m*-hpip, *p*-hphp] 系列配合物, Docking 计算的结合能与 DFT 计算结果均吻合, 而且对接结果的构象也和分子力学建模优化后得到的构象基本一致, 很好地印证了模型的可靠性。

## 二、不足与展望

基于本文上述的研究内容和意义, 我认为本论文还需要进一步开展如下工作来充实和丰富。

1. 分子对接 (Docking) 方法研究钌(II)多吡啶类配合物和 DNA 相互作用目前尚处于摸索阶段, 通过继续探索计算方法, 开展该类配合物与 DNA 作用规律的研究工作, 探讨钌(II)多吡啶类配合物和 DNA 的作用机理。

2. 用量子化学方法将钌(II)多吡啶配合物与 DNA 结合起来形成一个整体来进行研究, 运算量很大。可综合运用量子化学与分子力学结合 (QM/MM) 等计算方法, 进一步开展钌(II)多吡啶类配合物和 DNA 相互作用的分子模拟的研究, 深入研究钌(II)多吡啶配合物与 DNA 的作用位点、影响因素, 以更好地理解其作用机理。



## 参考文献

- [1] Norden, B., Lincoln, P., Akerman, B. Tuite, E. Metal Ions in Biological Systems. Sigel, A. Sigel, H., Marcel Dekker, New York, 1996.
- [2] 计亮年, 黄锦汪, 莫庭焕. 生物无机化学导论. 第二版, 中山大学出版社, 广州, 2001.
- [3] 杨频, 高飞. 生物无机化学原理. 科学出版社, 北京, 2002.
- [4] Barton, J. K. Metal ions in biological system: interaction of metal ions with nucleotides, nucleic acids and nucleosides. *Science*. **1986**, *233*, 727-734.
- [5] Friedman, A. E., Chambron, J. C., Sauvage, J. P., Turro, N. J. Barton, J. K. A molecular light switch for DNA: Ru(bpy)<sub>2</sub>(dppz)<sup>2+</sup>. *Journal of the American Chemical Society*. **1990**, *112*, 4960-4962.
- [6] Hartshorn, R. M. Barton, J. K. Novel dipyridophenazine complexes of ruthenium(II): exploring luminescent reporters of DNA. *Journal of the American Chemical Society*. **1992**, *114*, 5919-5925.
- [7] Erkkila, K. E., Odom, D. T. Barton, J. K. Recognition and reaction of metallointercalators with DNA. *Chem. Rev*. **1999**, *99*, 2777-2796.
- [8] Ruba, E., Hart, J. R. Barton, J. K. [Ru(bpy)<sub>2</sub>(L)]Cl<sub>2</sub>: Luminescent Metal Complexes That Bind DNA Base Mismatches. *Inorg. Chem*. **2004**, *43*, 4570-4578.
- [9] Cheng, C. C., Goll, J. G., Neyhart, G. A., Welch, T. W., Singh, P. Thorp, H. H. Relative rates and potentials of competing redox processes during DNA cleavage: oxidation mechanisms and sequence-specific catalysis of the self-inactivation of oxometal oxidants by DNA. *J. Am. Chem. Soc*. **1995**, *117*, 2970-2980.
- [10] 曹凯鸣, 李碧羽, 彭泽国. 核酸化学导论. 复旦大学出版社, 1991.
- [11] Pyle, A. M. Barton, J. K. Probing nucleic acids with transition metal complexes. *Prog. Inorg. Chem*. **1990**, *38*, 413-475.
- [12] Rehmann, J. P. Barton, J. K. Proton NMR studies of tris (phenanthroline) metal complexes bound to oligonucleotides: characterization of binding modes. *Biochemistry*. **1990**, *29*, 1701-1709.
- [13] Eriksson M, L. M., Hiort C, Norden B, Graslund A. *J. Am. Chem. Soc*. **1992**, *114*, 4933.
- [14] Cotterill, S. Eukaryotic DNA replication: a practical approach. Oxford University Press, UK, 1999.

- [15] Neidle, S. Oxford handbook of nucleic acid structure. Oxford University Press New York, 1999.
- [16] Stekel, D. Microarray bioinformatics. Cambridge University Press, 2003.
- [17] Loft, S. Poulsen, H. E. Cancer risk and oxidative DNA damage in man. *Journal of molecular medicine*. 1996, 74, 297-312.
- [18] Battiste, J. L., Mao, H., Rao, N. S., Tan, R., Muhandiram, D. R., Kay, L. E., Frankel, A. D. Williamson, J. R. Alpha helix-RNA major groove recognition in an HIV-1 rev peptide-RRE RNA complex. *Science*. 1996, 273, 1547.
- [19] Stephen, N., Oxford Handbook of Nucleic Acid Structure, vol. 331. In Oxford University Press, New York: 1998.
- [20] Gao, Y. G., Robinson, H., Sanishvili, R., Joachimiak, A., Wang, A.H. Structure and recognition of sheared tandem G x A base pairs associated with human centromere DNA sequence at atomic resolution. *Biochemistry*. 1999, 38, 16452-16460.
- [21] Prive, G. G., Heinemann, U., Chandrasegaran, S., Kan, L. S., Kopka, M. L. Dickerson, R. E. Helix geometry, hydration, and GA mismatch in a B-DNA decamer. *Science*. 1987, 238, 498-504.
- [22] Pan, B., Mitra, S. N. Sundaralingam, M. Crystal Structure of an RNA 16-mer Duplex R(GCAGAGUAAAUCUGC)<sub>2</sub> with Nonadjacent G(Syn). A+ (Anti) Mispairs. *Biochemistry*. 1999, 38, 2826-2831.
- [23] Wu, M., SantaLucia Jr, J. Turner, D. H. Solution structure of (rGGCAGGCC)<sub>2</sub> by two-dimensional NMR and the iterative relaxation matrix approach. *Biochemistry*. 1997, 36, 4449-4460.
- [24] 熊振海. 大环芳香配体配合物对正常和错配 DNA 结构识别作用的分子模拟. 博士论文, 山西大学, 2004.
- [25] Wong, E. Giandomenico, C. M. Current status of platinum-based antitumor drugs. *Chem. Rev.* 1999, 99, 2451-2466.
- [26] Novakova, O., Kasparkova, J., Vrana, O., van Vliet, P. M., Reedijk, J. Brabec, V. Correlation between cytotoxicity and DNA binding of polypyridyl ruthenium complexes. *Biochemistry*. 1995, 34, 12369-12378.
- [27] Clarke, M. J. Ruthenium complexes: potential roles in anticancer pharmaceuticals. *Metal complexes in cancer chemotherapy*. 1993, 129.
- [28] Kelly, J. M., Tossi, A. B., McConnell, D. J. OhUigin, C. A study of the interactions of some polypyridylruthenium(II) complexes with DNA using fluorescence spectroscopy, topoisomerisation and thermal denaturation. *Nucleic acids research*. 1985, 13, 6017.

- [29] Mahadevan, S. Palaniandavar, M. Electrochemical study of the enantioselective interaction of Tris (phen) Ru(II) with calf thymus DNA. *Journal of Inorganic Biochemistry*. **1995**, *59*, 161-161.
- [30] Mei, H. Y. Barton, J. K. Chiral probe for A-form helices of DNA and RNA: tris (tetramethylphenanthroline) ruthenium(II). *Journal of the American Chemical Society*. **1986**, *108*, 7414-7416.
- [31] Tamilarasan, R. McMillin, D. R. Photophysical studies of copper phenanthrolines bound to DNA. *Inorganic Chemistry*. **1990**, *29*, 2798-2802.
- [32] Lipscomb, L. A., Zhou, F. X., Presnell, S. R., Woo, R. J., Peek, M. E., Plaskon, R. R. Williams, L. D. Structure of a DNA-porphyrin complex. *Biochemistry*. **1996**, *35*, 2818-2823.
- [33] Kumar, C. V., Barton, J. K. Turro, N. J. Photophysics of ruthenium complexes bound to double helical DNA. *Journal of the American Chemical Society*. **1985**, *107*, 5518-5523.
- [34] Barton, J. K., Goldberg, J. M. Kumar, C. V. Binding modes and base specificity of tris (phenanthroline) ruthenium(II) enantiomers with nucleic acids: tuning the stereoselectivity. *J Am Chem Soc*. **1986**, *108*, 2-081.
- [35] Eriksson, M., Leijon, M., Hiort, C., Norden, B. Graeslund, A. Binding of DELTA.-and LAMBDA.-[Ru(phen)<sub>3</sub>]<sup>2+</sup> to [d(CGCGATCGCG)]<sub>2</sub> Studied by NMR. *Biochemistry*. **1994**, *33*, 5031-5040.
- [36] Lincoln, P., Broo, A. Norden, B. Diastereomeric DNA-binding geometries of intercalated ruthenium(II) trischelates probed by linear dichroism:[Ru(phen)<sub>2</sub>DPPZ]<sup>2+</sup> and [Ru(phen)<sub>2</sub>BDPPZ]<sup>2+</sup>. *J. Am. Chem. Soc*. **1996**, *118*, 2644-2653.
- [37] Gielen, M., Willem, R. Wrackmeyer, B. Fluxional organometallic and coordination compounds. Wiley, 2004.
- [38] Lakowicz, J. R. Topics in Fluorescence Spectroscopy, Vol.14; 4, Probe Design and Chemical Sensing. Kluwer Academic Publishers, New York, 2002.
- [39] 巢晖, 高峰, 计亮年. 钉(II)多吡啶配合物与 DNA 相互作用研究. *化学进展*. **19(12)**, 1844-1851.
- [40] Barton, J. K., Dannenberg, J. J. Raphael, A. L. Enantiomeric selectivity in binding tris (phenanthroline) zinc(II) to DNA. *Journal of the American Chemical Society*. **1982**, *104*, 4967-4969.
- [41] Pyle, A. M., Rehmann, J. P., Meshoyrer, R., Kumar, C. V., Turro, N. J. Barton, J. K. Mixed-ligand complexes of ruthenium(II): factors governing binding to DNA. *J. Am. Chem. Soc*. **1989**, *111*, 3051-3058.
- [42] Del Guerzo, A., Leroy, S., Fages, F. Schmehl, R. H. Photophysics of Re(I) and Ru(II)

diimine complexes covalently linked to pyrene: contributions from intra-ligand charge transfer states. *Inorg. Chem.* **2002**, *41*, 359-366.

[43] Schoonover, J. R., Bates, W. D. Meyer, T. J. Application of Resonance Raman Spectroscopy to Electronic Structure in Metal Complex Excited States. Excited-State Ordering and Electron Delocalization in Dipyrido [3, 2-a: 2', 3'-c] phenazine (dppz): Complexes of Re (I) and Ru (II). *Inorganic Chemistry.* **1995**, *34*, 6421-6422.

[44] Liz-Marzán, L. M. Kamat, P. V. Nanoscale materials. Kluwer Academic Publishers, Boston, 2003.

[45] Nair, R. B., Teng, E. S., Kirkland, S. L. Murphy, C. J. Synthesis and DNA-binding Properties of [Ru(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>dppz]<sup>2+</sup>. *Inorg. Chem.* **1998**, *37*, 139-141.

[46] Turro, C., Bossmann, S. H., Jenkins, Y., Barton, J. K. Turro, N. J. Proton Transfer Quenching of the MLCT Excited State of Ru (phen) 2dppz<sup>2+</sup> in Homogeneous Solution and Bound to DNA. *Journal of the American Chemical Society.* **1995**, *117*, 9026-9032.

[47] Nair, R. B., Cullum, B. M. Murphy, C. J. Optical Properties of [Ru (phen) 2dppz]<sup>2+</sup> as a Function of Nonaqueous Environment. *Inorg. Chem.* **1997**, *36*, 962-965.

[48] Holmlin, R. E., Stemp, E. D. A. Barton, J. K. Ru[(phen)<sub>2</sub>dppz]<sup>2+</sup> luminescence: Dependence on DNA sequences and groove-binding agents. *Inorg. Chem.* **1998**, *37*, 29-34.

[49] Tuite, E., Lincoln, P. Norden, B. Photophysical Evidence That [Delta]-and [Lambda]-[Ru(phen)<sub>2</sub>(dppz)]<sup>2+</sup> Intercalate DNA from the Minor Groove. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 239-240.

[50] Liu, J. G., Ye, B. H., Chao, H., Zhen, Q. X. Ji, L. N. Luminescence retrieval of [Ru(bpy)<sub>2</sub>(HNOIP)]<sup>2+</sup>: a novel molecular "light switch" for DNA. *Chemistry Letters.* **1999**, *28*, 1085-1086.

[51] Liu, Y. J., Chao, H., Tan, L. F., Yuan, Y. X., Wei, W. Ji, L. N. Interaction of polypyridyl ruthenium (II) complex containing asymmetric ligand with DNA. *Journal of inorganic biochemistry.* **2005**, *99*, 530-537.

[52] Arounaguirri, S. Maiya, B. G. "Electro-Photo Switch" and "Molecular Light Switch" Devices Based on Ruthenium (II) Complexes of Modified Dipyridophenazine Ligands: Modulation of the Photochemical Function through Ligand Design. *Inorg. Chem.* **1999**, *38*, 842-843.

[53] Moucheron, C., Kirsch-De Mesmaeker, A. Choua, S. Photophysics of Ru(phen)<sub>2</sub>(PHEHAT)<sup>2+</sup>: A Novel "Light Switch" for DNA and Photo-oxidant for Mononucleotides. *Inorg. Chem.* **1997**, *36*, 584-592.

[54] Kelman, A. D., Clarke, M. J., Edmonds, S. D. Peresie, H. J. Inhibition of Cell Growth by Ammineruthenium Compounds. *J Clin Hemat Oncol.* **1977**, *7*, 274-277.

[55] Angela, Eisabetta.I Enzo.A. Modification and Recognition in Biomedicine, International Conference on Conformation, 2000, p 72.

[56] Rauk, A. Orbital interaction theory of organic chemistry. Wiley-Interscience, 2002.

[57] Spevac?ek, J., Brus, J., Dybal, J. Kang, Y. S. Solid-State <sup>13</sup>C NMR and DFT Quantum-Chemical Study of Polymer Electrolyte Poly (2-ethyl-2-oxazoline)/AgCF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>. *Macromolecules*. **2005**, *38*, 5083-5087.

[58] Ricciardi, G., Rosa, A., Baerends, E. J. van Gisbergen, S. A. J. Electronic structure, chemical bond, and optical spectra of metal bis (porphyrin) complexes: A DFT/TDDFT study of the bis (porphyrin) M (IV)(M= Zr, Ce, Th) series. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 12319-12334.

[59] Gunaratne, T. C., Gusev, A. V., Peng, X., Rosa, A., Ricciardi, G., Baerends, E. J., Rizzoli, C., Kenney, M. E. Rodgers, M. A. J. Photophysics of octabutoxy phthalocyaninato-Ni(II) in toluene: Ultrafast experiments and DFT/TDDFT studies. *J. Phys. Chem. A*. **2005**, *109*, 2078-2089.

[60] Feindel, K. W., Ooms, K. J. Wasylshen, R. E. A solid-state <sup>55</sup> Mn NMR spectroscopy and DFT investigation of manganese pentacarbonyl compounds. *Physical Chemistry Chemical Physics*. **2007**, *9*, 1226-1238.

[61] Sivasankar, C., Sadhukhan, N., Bera, J. K. Samuelson, A. G. Is copper (i) hard or soft: A density functional study of mixed ligand complexes. *New Journal of Chemistry*. **2007**, *31*, 385-393.

[62] Gelabert, R., Moreno, M., Lluch, J. M. Lledos, A. Elongated Dihydrogen Complexes: A Combined Electronic DFT+ Nuclear Dynamics Study of the [Ru (H... H)(C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>)(H<sub>2</sub>PCH<sub>2</sub>PH<sub>2</sub>)]+ Complex. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 9840-9847.

[63] Bencini, A., Ciofini, I., Daul, C. A. Ferretti, A. Ground and Excited State Properties and Vibronic Coupling Analysis of the Creutz-Taube Ion,[(NH<sub>3</sub>)<sub>5</sub>Ru-pyrazine-Ru(NH<sub>3</sub>)<sub>5</sub>]<sup>5+</sup>, Using DFT. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 11418-11424.

[64] Turki, M., Daniel, C., Zalis, S., Vlc?ek Jr, A., van Slageren, J. Stufkens, D. J. UV-Visible Absorption Spectra of [Ru(E)(E)(CO)<sub>2</sub>(iPr-DAB)](E= E= SnPh<sub>3</sub> or Cl; E= SnPh<sub>3</sub> or Cl, E= CH<sub>3</sub>; iPr-DAB= N, N-Di-isopropyl-1, 4-diaza-1, 3-butadiene): Combination of CASSCF/CASPT2 and TD-DFT Calculations. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 11431-11440.

[65] Zalis, S., Amor, N. B. Daniel, C. Influence of the Halogen Ligand on the Near-UV/Visible Spectrum of [Ru (X)(Me)(CO)<sub>2</sub>([alpha]-diimine)](X= Cl, I; [alpha]-Diimine= Me-DAB, iPr-DAB; DAB= 1, 4-Diaza-1, 3-butadiene): An ab Initio and TD-DFT Analysis. *Inorg. Chem.* **2004**, *43*, 7978-7985.

[66] Chen, X. Y., Zhao, Y. X. Wang, S. G. Relativistic DFT study on the reaction mechanism of second-row transition metal Ru with CO<sub>2</sub>. *J. Phys. Chem. A*. **2006**, *110*, 3552-3558.

[67] Vogel, W., Kaghazchi, P., Jacob, T. Alonso-Vante, N. Genesis of RuxSey Nanoparticles

by Pyrolysis of  $\text{Ru}_4\text{Se}_2(\text{CO})_{11}$ : A Combined X-ray in Situ and DFT Study. *Journal of Physical Chemistry C*. **2007**, *111*, 3908-3913.

[68] Nazeeruddin, M. K., De Angelis, F., Fantacci, S., Selloni, A., Viscardi, G., Liska, P., Ito, S., Takeru, B. Gratzel, M. Combined experimental and DFT-TDDFT computational study of photoelectrochemical cell ruthenium sensitizers. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 16835-16847.

[69] Rosa, A. Baerends, E. J. SJA vanGisbergen, E. vanLenthe, JA Gooeneveld, JG Snijders. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 10356.

[70] Silva, R. S., Gorelsky, S. I., Dodsworth, E. S., Tfouni, E. Lever, A. B. P. Synthesis, spectral and redox properties of tetraammine dioxolene ruthenium complexes. *Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions*. **2000**, *2000*, 4078-4088.

[71] Gorelsky, S. I., Silva, S. C., Lever, A. B. P. Franco, D. W. Electronic spectra of trans- $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_4(\text{L})(\text{NO})]_{3/2}$  complexes. *Inorg. Chim. Acta*. **2000**, *302*, 698-708.

[72] Nemykin, V. N. Kobayashi, N. Communications-A tetraazaporphyrin with an intense, broad near-IR band. *Chemical Communications-Letchworth*. **2001**, 165-166.

[73] Gorelsky, S. I. Lever, A. B. P. Electronic structure and spectra of ruthenium diimine complexes by density functional theory and INDO/S. Comparison of the two methods. *Journal of Organometallic Chemistry*. **2001**, *635*, 187-196.

[74] Pourtois, G., Beljonne, D., Moucheron, C., Schumm, S., Kirsch-De Mesmaeker, A., Lazzaroni, R. Bredas, J. L. Photophysical properties of ruthenium (II) polyazaaromatic compounds: A theoretical insight. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 683-692.

[75] Kurita, N. Kobayashi, K. Density functional MO calculation for stacked DNA base-pairs with backbones. *Computers and Chemistry*. **2000**, *24*, 351-357.

[76] Stoyanov, S. R., Villegas, J. M. Rillema, D. P. Density functional theory calculations of selected Ru (II) two ring diimine complex dications. *Inorg. Chem.* **2002**, *41*, 2941-2945.

[77] Reha, D., Kabelac, M., Ryjacek, F., Sponer, J., Sponer, J. E., Elstner, M., Suhai, S. Hobza, P. Intercalators. 1. Nature of stacking interactions between intercalators (ethidium, daunomycin, ellipticine and 4',6'-diaminido-2-phenylindole) and DNA base pairs. Ab initio quantum chemical, density functional theory, and empirical potential study. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 3366-3376.

[78] Young, D. C. Computational chemistry. Wiley New York, 2001.

[79] Andre.R.L. Molecular Modeling-principle and Applications. Addison Welson Longman (世界图书出版社), 1999.

[80] Pin, Y. Daxiong, H. A. N. Molecular modeling of the binding mode of chiral metal complexes  $\Delta$ - and  $\Lambda$ - $[\text{Co}(\text{phen})_2\text{dppz}]^{3+}$  with B-DNA. *SCIENCE IN CHINA(Series B)*. **2000**.

- [81] Yang, P., Han, D. Xiong, Z. Molecular modeling of the binding mode of dipyrido [3,2-a:2',3'-c] phenazine (dppz) and tetrapyrido [3,2-a:2',3'-c:3'',2''-h:2''',3''''-j] phenazine (tpphz) cobalt chiral metal complexes with B-DNA. *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM*. **2001**, *540*, 211-219.
- [82] 杨频 熊振海.  $\Delta$ ,  $\Lambda$ -[Co(phen)<sub>2</sub>tpphz]<sup>3+</sup>与 B-DNA 相互作用的分子模拟. *化学学报*. **2001**, *59*, 1038-1044.
- [83] 熊振海, 杨频.  $\Lambda$ -及  $\Delta$ -[Ru(phen)<sub>2</sub>(dppz)]<sup>n+</sup>对错配 DNA 的识别作用的分子模拟. *化学研究与应用*. **2002**, *14*, 649-652.
- [84] Xiong, Z. Yang, P. Studies of the Interaction Between Sheared DNA and  $\Lambda$ -or  $\Delta$ -[Ru(phen)<sub>2</sub>(dppz)]<sup>3+</sup> by Molecular Modeling. *J.Mol.Struc(Theochem)*. **2002**, *582*, 107-117.
- [85] 常永龙, 张翠萍, 杨频. 手性金属配合物 $\Delta, \Lambda$ -[Ru(IP)<sub>2</sub>dppz]<sup>2+</sup>对含 G:T 错配的环丁烷嘧啶二聚体识别和部分构型修复的分子力学研究. *化学学报*. **2007**, *65*.
- [86] Foresman, J. B., Frisch Gaussian, I. Exploring chemistry with electronic structure methods. **1996**.
- [87] 俞庆森, 朱龙观. 分子设计导论. 高等教育出版社, 北京, 2000.
- [88] 徐光宪 黎乐民. 量子化学. 科学出版社, 1999.
- [89] 廖沐真, 吴国是. 量子化学从头计算方法. 清华大学出版社, 1984.
- [90] 林梦海. 量子化学简明教程. 化学工业出版社, 2005.
- [91] 刘靖疆. 基础量子化学与应用. 高等教育出版社, 2004.
- [92] Ira, N. 量子化学(宁世光等译). 人民教育出版社, 北京, 1980.
- [93] 理查德, W.G., 古柏 D.J. 分子轨道从头算法. 科学出版社, 北京, 1987.
- [94] 徐光宪, 黎乐民. 量子化学基本原理和从头算法. 科学出版社, 北京, 1980.
- [95] Becke, A. D. A new mixing of Hartree - Fock and local density - functional theories. *The Journal of Chemical Physics*. **1993**, *98*, 1372.
- [96] Görling.A. Density-functional theory for excited states. *Physical Review-Section A-Atomic Molecular and Optical Physics*. **1996**, *54*, 3912-3915.
- [97] Schaftenaar, G. Noordik, J. H. Molden: a pre-and post-processing program for molecular and electronic structures. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*. **2000**, *14*, 123-134.
- [98] Xu, X., Zhang, Q., Muller, R. P. Goddard Iii, W. A. An extended hybrid density functional (X3LYP) with improved descriptions of nonbond interactions and thermodynamic properties of molecular systems. *The Journal of chemical physics*. **2005**, *122*, 014105.

[99] Xu, X. Goddard, W. A. The X3LYP extended density functional for accurate descriptions of nonbond interactions, spin states, and thermochemical properties. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. **2004**, *101*, 2673-2677.

[100] Xu, X. Goddard, W. A. The extended Perdew-Burke-Ernzerhof functional with improved accuracy for thermodynamic and electronic properties of molecular systems. *The Journal of chemical physics*. **2004**, *121*, 4068.

[101] Xu, X. Goddard, W. A. Assessment of Handy-Cohen optimized exchange density functional (OPTX). *Journal of Physical Chemistry A*. **2004**, *108*, 8495-8504.

[102] Xu, X. Goddard, W. A. Bonding properties of the water dimer: A comparative study of density functional theories. *exchange*. **2**, 14.

[103] Becke, A. D. Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange. *The Journal of Chemical Physics*. **1993**, *98*, 5648.

[104] Lee, C., Yang, W. Parr, R. G. Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density. *Physical Review B*. **1988**, *37*, 785-789.

[105] Challacombe, M., Gill, P. M. W., Johnson, B., Chen, W., Wong, M. W., Andres, J. L., Gonzalez, C., Head-Gordon, M., Replogle, E. S. Pople, J. A. Gaussian 03, Revision D. 01; Gaussian, Inc.: Pittsburgh PA. **2005**.

[106] Schneider, H. J. Comment on "Rationalizing the Strength of Hydrogen-Bonded Complexes. Ab Initio HF and DFT Studies". *J. Phys. Chem. A*. **2003**, *107*, 9250.

[107] Fielicke, A., Mitric, R., Meijer, G., Bonacic-Koutecky, V. von Helden, G. The Structures of Vanadium Oxide Cluster-Ethene Complexes. A Combined IR Multiple Photon Dissociation Spectroscopy and DFT Calculation Study. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 15716-15717.

[108] Tsutsui, S., Sakamoto, K., Yoshida, H. Kunai, A. 2, 3, 5, 6-Tetrakisyl- and 2, 3, 5, 6-Tetragermyl-1, 4-benzoquinones: X-ray Crystallographic Analysis, Cyclic Voltammetry, and DFT Calculations. *Organometallics*. **2004**, *23*, 4800.

[109] Dong, M., Wang, G., Qin, Z., Wang, J., Liu, T., Yuan, S. Jiao, H. A Comparative Investigation of Co<sup>2+</sup> and Mn<sup>2+</sup> Incorporation into Aluminophosphates by in Situ XAS and DFT Computation. *J. Phys. Chem. A*. **2007**, *111*, 1515-1522.

[110] Zhou, M., Zhang, L., Chen, M., Zheng, Q. Qin, Q. Carbon Dioxide Fixation by Copper and Silver Halide. Matrix-Isolation FTIR Spectroscopic and DFT Studies of the XMOCO (X= Cl and Br, M= Cu and Ag) Molecules. *J. Phys. Chem. A*. **2000**, *104*, 10159-10164.

[111] Legge, F. S., Nyberg, G. L. Peel, J. B. DFT calculations for Cu-, Ag-, and Au-containing molecules. *J. Phys. Chem. A*. **2001**, *105*, 7905-7916.

[112] Itoh, K., Kiyohara, T., Shinohara, H., Ohe, C., Kawamura, Y. Nakai, H. DFT



calculation analysis of the infrared spectra of ethylene adsorbed on Cu (110), Pd (110), and Ag (110). *J. Phys. Chem. B.* **2002**, *106*, 10714-10721.

[113] Sierraalta, A., Anez, R. Brussin, M. R. Theoretical Study of the Interaction of NO<sub>2</sub> Molecule with a Metal- Zeolite Model (Metal= Cu, Ag, Au). *J. Phys. Chem. A.* **2002**, *106*, 6851-6856.

[114] Wang, G. C., Jiang, L., Pang, X. Y. Nakamuras, J. Cluster and Periodic DFT Calculations: The Adsorption of Atomic Nitrogen on M (111)(M= Cu, Ag, Au) Surfaces. *J. Phys. Chem. B.* **2005**, *109*, 17943-17950.

[115] Gao, W., Zhao, M. Jiang, Q. A DFT Study on Electronic Structures and Catalysis of Ag<sub>12</sub>O<sub>6</sub>/Ag (111) for Ethylene Epoxidation. **2007**.

[116] Ong, K. P., Bai, K., Blaha, P. Wu, P. Electronic Structure and Optical Properties of AFeO<sub>2</sub> (A= Ag, Cu) within GGA Calculations. *Chem. Mater.* **2007**, *19*, 634-640.

[117] Zheng, K., Wang, J., Peng, W., Liu, X. Yun, F. Studies on 6, 6-Disubstitution Effects of the dpq in [Ru(bpy)<sub>2</sub>(dpq)]<sup>2+</sup> with DFT Method. *J. Phys. Chem. A.* **2001**, *105*, 10899-10905.

[118] Zheng, K. C., Wang, J. P., Shen, Y., Peng, W. L. Yun, F. C. Studies on electronic structures and related properties of complexes M(tap). *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **2002**, *111*, 111.

[119] Mei, W. J., Liu, J., Zheng, K. C., Lin, L. J., Chao, H., Li, A. X., Yun, F. C. Ji, L. N. Experimental and theoretical study on DNA-binding and photocleavage properties of chiral complexes Δ-and Λ-[Ru(bpy)<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup> (L= o-hpip, m-hpip and p-hpip). *Dalton Transactions.* **2003**, *2003*, 1352-1359.

[120] Xu, H., Zheng, K. C., Deng, H., Lin, L. J., Zhang, Q. L. Ji, L. N. Effects of the ancillary ligands of polypyridyl ruthenium(II) complexes on the DNA-binding behaviors. *New Journal of Chemistry.* **2003**, *27*, 1255-1263.

[121] Ji, L. N. Zheng, K. C. Studies of electron transfer between metal complexes and DNA by the DFT method and photochemistry. *J. Inorg. Biochem.* **2003**, *96 (1)*, 38-38.

[122] Zheng, K. C., Deng, H., Liu, X. W., Li, H., Chao, H. Ji, L. N. Electronic structures, DNA-binding and related properties of complexes[Ru(bpy)<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup> (L= ip, pip, hpip). *Journal of molecular structure. Theochem.* **2004**, *682*, 225-233.

[123] Liu, J., Mei, W. J., Lin, L. J., Zheng, K. C., Chao, H., Yun, F. C. Ji, L. N. Electronic effects on the interactions of complexes [Ru(phen)<sub>2</sub>(pL)]<sup>2+</sup> (L= MOPIP, HPIP, and NPIP) with DNA. *Inorganica Chimica Acta.* **2004**, *357*, 285-293.

[124] Xu, H., Zheng, K. C., Lin, L. J., Li, H., Gao, Y. Ji, L. N. Effects of the substitution positions of Br group in intercalative ligand on the DNA-binding behaviors of Ru (II) polypyridyl complexes. *Journal of inorganic biochemistry.* **2004**, *98*, 87-97.

[125] Shi, S., Liu, J., Li, J., Zheng, K. C., Tan, C. P., Chen, L. M. Ji, L. N. Electronic effect of different positions of the  $-\text{NO}_2$  group on the DNA-intercalator of chiral complexes  $[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{L}]^{2+}$  ( $\text{L} = \text{o-npip}$ ,  $\text{m-npip}$  and  $\text{p-npip}$ ). *Dalton Transactions*. **2005**, 2005, 2038-2046.

[126] Mei, W. J., Liu, Y. X., Liu, J., Li, J., Zheng, K. C. Ji, L. N. Synthesis, characterization and DNA-binding properties of mixed porphyrin-polypyridyl ruthenium (II) complexes. *Transition Metal Chemistry*. **2005**, 30, 82-88.

[127] Deng, H., Li, J., Zheng, K. C., Yang, Y., Chao, H. Ji, L. N. Synthesis, characterization, structures and DNA-binding properties of complexes  $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{L})]^{2+}$  ( $\text{L} = \text{ptdb}$ ,  $\text{ptda}$  and  $\text{ptdp}$ ) with asymmetric intercalative ligands. *Inorganica Chimica Acta*. **2005**, 358, 3430-3440.

[128] Shi, S., Liu, J., Li, J., Zheng, K. C., Huang, X. M., Tan, C. P., Chen, L. M. Ji, L. N. Synthesis, characterization and DNA-binding of novel chiral complexes D- and K- $[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{L}]^{2+}$  ( $\text{L} = \text{o-mopip}$  and  $\text{p-mopip}$ ). *J Inorg Biochem*. **2006**, 100, 385-395.

[129] Li, J., Chen, J. C., Xu, L. C., Zheng, K. C. Ji, L. N. A DFT/TDDFT study on the structures, trend in DNA-binding and spectral properties of molecular "light switch" complexes  $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{L})]^{2+}$  ( $\text{L} = \text{dppz}$ ,  $\text{taptp}$ ,  $\text{phehat}$ ). *Journal of Organometallic Chemistry*. **2007**, 692, 831-838.

[130] 唐敖庆等. 大分子体系的量子化学. 吉林大学出版社. **2005**.

[131] Merz Jr, K. M., Ferguson, D. M., Spellmeyer, D. C., Fox, T., Caldwell, J. W. Kollman, P. A. A second generation force field for the simulation of proteins, nucleic acids, and organic molecules. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, 117, 5179-5197.

[132] Yong, D. C., Computational Chemistry, A practical guide for applying techniques to real-world problems. In New York: John Wiley & Sons, Inc, Publication: 2001.

[133] Rappe, A. K. Goddard Iii, W. A. Charge equilibration for molecular dynamics simulations. *The Journal of Physical Chemistry*. **1991**, 95, 3358-3363.

[134] 李松, 焦克芳. 计算机辅助药物设计专家系统 Apex 中镇痛药物数据库的建立. *计算机与应用化学*. **1995** 12, 38-41.

[135] Berman, H. M., Battistuz, T., Bhat, T. N., Bluhm, W. F., Bourne, P. E., Burkhardt, K., Feng, Z., Gilliland, G. L., Iype, L. Jain, S. The protein data bank. *Acta Crystallographica Section D: Biological Crystallography*. **2002**, 58, 899-907.

[136] Kitchen, D. B., Decornez, H., Furr, J. R. Bajorath, J. Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications. *Nature reviews Drug discovery*. **2004**, 3, 935-949.

[137] Kuntz, I. D. Structure-based strategies for drug design and discovery. *Science*. **1992**, 257, 1078-1082.

[138] Shoichet, B. K., Kuntz, I. D. Bodian, D. L. Molecular docking using shape descriptors. *Journal of Computational Chemistry*. **1992**, *13*, 380-397.

[139] Meng, E. C., Shoichet, B. K. Kuntz, I. D. Automated docking with grid-based energy evaluation. *Journal of Computational Chemistry*. **1992**, *13*, 505-524.

[140] Morris, G. M., Goodsell, D. S., Halliday, R. S., Huey, R., Hart, W. E., Belew, R. K. Olson, A. J. Automated docking using a Lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function. *Journal of Computational Chemistry*. **1998**, *19*, 1639-1662.

[141] Morris, G. M., Goodsell, D. S., Huey, R., Hart, W. E., Halliday, S., Belew, R. Olson, A. J. Autodock Version 3.0. 3. *The Scripps Research Institute, Molecular Graphics Laboratory, Department of Molecular Biology*. **1999**.

[142] Pettersen, E. F., Goddard, T. D., Huang, C. C., Couch, G. S., Greenblatt, D. M., Meng, E. C. Ferrin, T. E. UCSF Chimera-a visualization system for exploratory research and analysis. *Journal of computational chemistry*. **2004**, *25*, 1605-1612.

[143] Santos-Filho, O. A., Figueroa-Villar, J. D. Araujo, M. T. Molecular modeling of the interaction of trypanocide guanyl hydrazones with B-DNA. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. **1997**, *7*, 1797-1802.

[144] HyperChem, H. C., Release 7 for Windows; HyperCube, Ed: 2002.

[145] SYBYL 6.9, St Louis Tripos Associates, Inc.: 2001.

[146] P.T. Lang, D. Moustakas, S. Brozell, N. C., S. Mukherjee, S. P., K. Raha, D. S., R. Rizzo, D. C., B. Shoichet I.Kuntz. DOCK, Version 6.2 (2008). *University of California, University of California, San Francisco, USA*.

[147] DA, C., TA, D., III, C. T., CL, S., RE, W., RL, D., ME, M., DA, W., DA, P. Crowley M, e. a. AMBER 8. *University of California:San Francisco*. **2004**.

## 已发表文章

1. Li Qian, Hai Liang Lu, Si Yan Liao, Ti Fang Miao, Yong Shen\*, Kang Cheng Zheng\*  
3D-QSAR and Docking Studies of Novel Quinazoline Analogues as Oral Inhibitors against AP-1 and NF- $\kappa$ B  
Journal of Theoretical and Computational Chemistry. 2009, 8(2):1-12
2. Si Yan Liao, Li Qian, Hai Liang Lu, Yong Shen and Kang Cheng Zheng\*.  
A Combined 2D- and 3D-QSAR Study on Analogues of ARC-111 with Antitumor Activity  
QSAR & Combinatorial Science. 2008, 27(6): 740 – 749.
3. SiYan Liao, Li Qian, TiFang Miao, HaiLiang Lu, KangCheng Zheng  
CoMFA and docking studies of 2-phenylindole derivatives with anticanceractivity  
European Journal of Medicinal Chemistry. 2009, 44, 2822-2827
4. Si Yan Liao, Li Qian, Ti Fang Miao, Hai Liang Lu, Kang Cheng Zheng \*  
Theoretical Studies on QSAR and Mechanism of 2-Indolinone Derivatives as Tubulin Inhibitors  
International Journal of Quantum Chemistry. 2009, 109, 999-1008
5. Ti Fang Miao, Li Qian, Si Yan Liao, Hai Liang Lu, Kang Cheng Zheng \*, Liang Nian Ji  
Effect of ancillary ligands on the electronic structures, DNA-binding and spectral properties of  $[\text{Co}(\text{L})_2(\text{pip})]^{3+}$  (L = phen, bpy, en, tap)  
Journal of Molecular Structure: THEOCHEM. 2008, 870: 94 – 99
6. Si Yan Liao, Li Qian, Jin Can Chen, Hai Liang Lu, Kang Cheng Zheng\*,  
2D and 3D-QSAR Studies on Antiproliferative Thiazolidine Analogs  
International Journal of Quantum Chemistry. 2008, 108 (8): 1380-1390.

会议论文:

陆海亮, 苗体方, 廖思燕, 钱力, 郑康成\*, 计亮年

钌(II)配合物 $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$ 对错配 DNA 的大、小沟及碱基对选择的理论研究  
第十届全国生物无机化学会议, 2009年4月17日至4月22日, 河南新乡

## 致 谢

幽幽康乐园，匆匆一瞬间，转眼间两年的研究生生活已接近尾声。在本论文完成之际，回想漫漫求学路，我心中充满了无限的眷恋和感激。

首先，衷心感谢我的导师郑康成教授！郑老师孜孜不倦的教导使我掌握了比较扎实的专业知识并培养了一定的研究能力，同时郑老师的精心指导使我得以完成这篇论文。感激他在学习和生活中给予我的关怀和指导，两年来自己取得的点滴进步，无不凝聚着郑老师的关切之情。郑老师严谨、科学、精益求精的治学态度，关心他人、爱护弟子、无私奉献的精神，都给我极大的教育和熏陶，将使我终身受益。

在此，还衷心感谢课题组的沈勇副教授，以及已退休的云逢存教授多方面的关心和热情的帮助！

同时，向钱力师兄、苗体方师兄、廖思燕师姐、陈锦灿师姐、李俊师姐；吴晓天，陈桃菊，廖金云等同窗以及读研期间认识的朋友们所给予的支持和帮助表示由衷的感谢！

本论文得到国家自然科学基金的资助，中山大学信息与网络中心提供高性能计算平台的支持，在此深表谢意！

本人读研期间还获得“中山大学研究生奖学金”，“福田奖学金”的鼓励和帮助，特此致谢！

最后，谨以此文献给我的父母，感谢他们一直以来对我的支持与鼓励！

陆海亮

二〇〇九年五月二十五日于中山大学