

N¹-甲基鸟嘌呤阳离子脱质子动力学的研究

吴丽丹 节家龙 刘坤辉* 苏红梅*

(中国科学院化学研究所 分子反应动力学国家重点实验室 北京 100190)

摘要 在所有 DNA 碱基中, 鸟嘌呤碱基 G 具有最低的氧化电位, 导致其最容易被氧化. G 碱基被单电子氧化成为 G 正离子自由基(G^{•+}), G^{•+}存在两个脱质子位点, 其中脱嘧啶环上亚氨基质子 N¹-H 比脱环外氨基质子 N²-H 更有利, 因而在普通 G 碱基中研究脱 N²-H 的过程无法排除脱 N¹-H 过程的干扰, 使得其脱 N²-H 的动力学迄今尚不明确. 在本文中, 通过将 G 碱基上的 N¹-H 用 CH₃ 取代(即 mG), 采用纳秒时间分辨瞬态紫外可见吸收光谱方法研究了 mG 碱基单电子氧化后脱质子 N²-H 的动力学. 根据瞬态紫外可见吸收光谱, 确定了 mG^{•+}脱质子的产物是 mG(N²-H)[•], 即脱质子的位点是 N²-H. 进一步通过测量 mG(N²-H)[•]的生成速率常数与 mG 的浓度依赖关系, 得到室温下 SO₄^{•-}单电子氧化 mG 生成 mG^{•+}的速率常数为(3.7±0.1)×10⁹ L·mol⁻¹·s⁻¹以及 mG^{•+}脱 N²-H 的速率常数为(7.1±0.2)×10⁶ s⁻¹. 并通过检测不同温度下 mG^{•+}脱 N²-H 的速率常数, 利用阿仑尼乌斯方程得出脱质子 N²-H 的活化能为 19.9±1.0 kJ·mol⁻¹. 这些结果可为 DNA 碱基的氧化损伤过程提供更为丰富的动力学信息.

关键词 N₁-甲基鸟嘌呤; 脱质子; 单电子氧化; 速率常数; 活化能

Deprotonation Kinetics of 1-Methylguanine After One-Electron Oxidation

Wu, Lidan Jie, Jialong Liu, Kunhui* Su, Hongmei*

(State Key Laboratory of Molecular Reaction Dynamics, Beijing National Laboratory for Molecular Sciences (BNLMS), Institute of Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100190, China)

Abstract Among the four natural DNA bases, guanine (G) is the most sensitive to oxidation due to its lowest oxidation potential. When G base is oxidized to guanine cation radical (G^{•+}), it will deprotonate from both the imino proton N¹-H and the amino proton N²-H. According to the pK_a values for N¹-H and N²-H deprotonation, the main deprotonation site in G base is N¹-H which would interfere with the N²-H deprotonation, making the kinetics of N²-H deprotonation difficult to be measured. Herein, the N²-H deprotonation kinetics is investigated using 1-methylguanosine (mG), where N¹-H is substituted by methyl group to avoid the N¹-H deprotonation and N⁹-H is substituted by ribose to ensure enough solubility of methylguanine in water, by nanosecond transient absorption (ns-TA) spectroscopy. By 355 nm photolysis of Na₂S₂O₈, the highly oxidizing radical SO₄^{•-} is generated, which will oxidize mG to mG^{•+} instantaneously. The time-resolved absorption spectra obtained for reaction of mG with SO₄^{•-} exhibits transient absorptions for mG(N²-H)[•] featured by absorption band at 600 nm, indicating that the mG^{•+} deprotonation product is mG(N²-H)[•] and the deprotonation site is therefore validated to be N²-H. The mG concentration dependence of mG(N²-H)[•] formation rate constant is assessed through changing the mG concentration from 0.25 mmol·L⁻¹ to 5 mmol·L⁻¹. The concentration dependence experiment reveals that the rate-limiting step to form mG(N²-H)[•] is the bimolecular reaction of mG with SO₄^{•-} when mG concentration is lower than 2 mmol·L⁻¹ and the bimolecular reaction rate constant to form mG^{•+} is (3.7±0.1)×10⁹ L·mol⁻¹·s⁻¹; when mG concentration is above 2 mmol·L⁻¹, the rate-limiting step to form mG(N²-H)[•] is the first-order mG^{•+} deprotonation and the N²-H deprotonation rate constant is (7.1±0.2)×10⁶ s⁻¹. Furthermore, the N²-H deprotonation rate constant is measured at different temperatures varying from 278 K to 298 K. According to Arrhenius equation, the activation energy barrier for the N²-H deprotonation is determined to be 19.9±1.0 kJ·mol⁻¹. These results can provide valuable kinetic information on the oxidative damage of DNA.

Keywords 1-methylguanine; deprotonation; one-electron oxidation; rate constant; activation energy barrier

1 引言

DNA 是生物体的遗传物质, 它的氧化损伤会导致错误的编码, 引起突变, 癌症和细胞的衰老^[1,2]. 这些损伤可以发生在 DNA 链的各个部位^[3-5], 包括碱基、戊糖

以及磷酸-戊糖连接处. 其中, DNA 碱基是最容易发生氧化损伤的^[6], 并且它们的氧化损伤尤其有害, 因为它会直接导致 DNA 结构的破坏^[7,8]. 在四种 DNA 碱基中(腺嘌呤 A, 鸟嘌呤 G, 胞嘧啶 C 和胸腺嘧啶 T), 鸟嘌呤 G 由于其氧化电位最低($E^{\circ}=1.29$ V vs NHE)^[9,10], 因而

* E-mail: khliu@iccas.ac.cn; hongmei@iccas.ac.cn

Received September 28, 2014; published October 22, 2014.

Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 21333012), the National Basic Research Program of China (No. 2013CB834602), and the Chinese Academy of Sciences (No. XDB12020200).

项目受国家自然科学基金(No. 21333012)、“973”基金(No. 2013CB834602)及中国科学院先导专项(No. XDB12020200)资助.

最容易被氧化损伤. 当 G(结构式如图 1 所示)被单电子氧化形成阳离子自由基 $G^{+\bullet}$ 后, 一般认为随后的过程是脱 N^1-H 生成 $G(N^1-H)^{\bullet}$ ^[11-13] (本文对 N 的标识采取图 1 的约定, 分别表示为 N^1 , N^2), 并且测得 $G^{+\bullet}$ 上 N^1-H 的 pKa 为 3.9^[11,13]. 然而, 已有的研究表明环外 N^2-H 上的 pKa 为 4.7^[11,12], 与 $G^{+\bullet}$ 上 N^1-H 的 pKa(3.9)值相差不大. 理论计算研究发现 $G^{+\bullet}$ 脱 N^1-H 产物 $G(N^1-H)^{\bullet}$ 和脱 N^2-H 产物 $G(N^2-H)^{\bullet}$ 的能量相近^[14-16], 并表明在 G 中从环外的氨基 N^2 上脱质子与从嘧啶环上的亚氨基 N^1 上脱质子是竞争的^[17]. 此外, 在低温玻璃态溶液^[18] 以及固体^[19,20] 条件下氧化 G 碱基的实验中, 确实检测到了产物 $G(N^2-H)^{\bullet}$, 说明在正常的 G 碱基被氧化后, 确实存在脱 N^2-H 的通道.

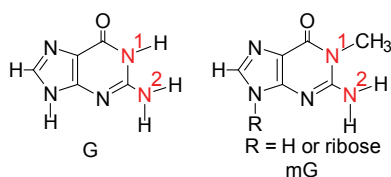


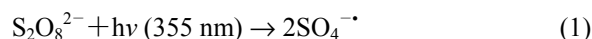
图 1 G 和 mG 的分子结构式
Figure 1 The structure of G and mG

反应速率常数, 活化能等是表征化学反应动力学的重要参数. 相对于 $G^{+\bullet}$ 脱质子 N^1-H 动力学已有大量深入的研究^[13,21-24], $G^{+\bullet}$ 脱质子 N^2-H 的动力学却鲜少有报道. 因为普通 G 碱基被氧化形成 $G^{+\bullet}$ 后, 由于 N^1-H 的 pKa(3.9)^[11,13] 稍小于 N^2-H 上的 pKa(4.7)^[11], 脱 N^1-H 是主要的过程, 并会对脱 N^2-H 通道的研究产生干扰, 使得脱 N^2-H 的动力学难以研究. 在本文中, 我们研究了鸟嘌呤碱基单电子氧化后脱质子 N^2-H 的速率常数以及活化能. 为了避免脱 N^1-H 通道对脱 N^2-H 过程研究的干扰, 我们选取 N^1-H 被 CH_3 取代的 G 碱基(mG, 结构式如图 1 所示)作为研究对象. 为了增加 mG 在水溶液中的溶解度, 我们实验所用的是带戊糖的 mG 碱基(以下文中的 mG 都指带戊糖的 mG 碱基), 其中戊糖不会对所要研究的碱基部分的反应动力学过程产生影响^[11,13]. 通过氧化性非常强的 $SO_4^{\bullet-}$ ($E^{\circ}=2.43$ V vs NHE)^[25] 氧化 mG 产生 $mG^{+\bullet}$, 采用纳秒时间分辨瞬态紫外可见吸收光谱方法研究了随后 $mG^{+\bullet}$ 脱 N^2-H 的动力学. 通过瞬态紫外可见吸收光谱, 我们首先确认了 $mG^{+\bullet}$ 脱质子的位点确实是 N^2-H . 而通过改变 mG 的浓度, 得到了 mG 与 $SO_4^{\bullet-}$ 双分子反应生成 $mG^{+\bullet}$ 的速率常数以及 $mG^{+\bullet}$ 脱 N^2-H 的速率常数. 最后, 通过改变温度测量脱质子 N^2-H 的速率常数, 利用阿伦尼乌斯(Arrhenius)方程得到了脱 N^2-H 的活化能, 为 DNA 碱基的氧化脱质子过程提供了动力学基本数据.

2 结果与讨论

2.1 $SO_4^{\bullet-}$ 的产生

根据文献报道^[26], 采用 355 nm 激光照射 $Na_2S_2O_8$ 溶液, 可导致溶液中 $S_2O_8^{2-}$ 的 O—O 键发生断裂, 生成 $SO_4^{\bullet-}$ (方程 1):



实验中, 用 355 nm 激光光解 $400 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 $Na_2S_2O_8$ 水溶液(pH=7.5)得到的 50 ns 时刻的吸收光谱如图 2 所示. 从图中可看出, 激光照射过后, 溶液在 310~550 nm 范围内都有吸收, 最强吸收峰在 450 nm 位置. 这与 Shafirovich 等^[26] 报道的 $SO_4^{\bullet-}$ 吸收光谱一致, 说明光解产生了 $SO_4^{\bullet-}$. $SO_4^{\bullet-}$ 在 450 nm 处的消光系数为 $1.6 \times 10^3 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ ^[27], 由实验测得 450 nm 处的吸光度(A)可以得到光解产生 $SO_4^{\bullet-}$ 的浓度为 $14 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$. $S_2O_8^{2-}$ 的光解离过程非常快(~ 14 ns)^[26], 因此 $SO_4^{\bullet-}$ 生成动力学不会对之后的次级反应过程研究造成干扰.

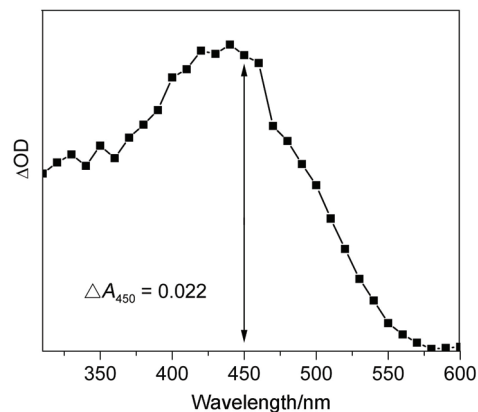


图 2 355 nm 激光光解 $400 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 $Na_2S_2O_8$ 水溶液(pH=7.5)在 50 ns 时刻的光谱

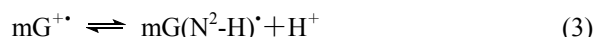
Figure 2 Transient UV-vis spectra at 50 ns for buffer solution (pH=7.5) of $Na_2S_2O_8$ ($400 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) upon 355 nm laser excitation

2.2 mG 中脱质子的位点

由 355 nm 激光瞬时产生的 $SO_4^{\bullet-}$ 可以氧化 mG 产生 $mG^{+\bullet}$ (方程 2)^[11]:



因为 $mG^{+\bullet}$ 的 pKa 为 4.7^[11], 在 pH=7.5 的条件下会发生脱质子的反应(方程 3):



由于 mG 上的 N^1-H 已经被 CH_3 取代, 因此脱质子反应只能发生在 N^2-H 位^[12], 这也可从测定 mG 与 $SO_4^{\bullet-}$ 的反应产物得到证实. 在室温下, 用 355 nm 激光光解 mG ($3 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) + $Na_2S_2O_8$ ($400 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 的水溶液(pH=7.5)得到瞬态吸收光谱展示在图 3 中. 如图所示, 在 50 ns 时刻的吸收光谱上, 在 400 nm 和 500 nm 有两个吸收峰, 这与文献中给出的 $mG^{+\bullet}$ 的吸收峰位置基本一致,

并且光谱形状也相同^[11,12], 因此 50 ns 时刻的吸收光谱可归属为 mG^+ . 随着反应的进行, mG^+ 在 400 nm 和 500 nm 处的吸收逐渐衰减, 并伴随着一个 600 nm 处新峰的生成(图 3). 对 400 nm 和 600 nm 处的谱峰进行单指数动力学拟合(图 3 插图)得到的时间常数一致(~ 160 ns), 说明 400 nm 光谱的衰减和 600 nm 光谱的上升对应于同一个过程, 即 mG^+ 脱质子. 由文献可知^[11,12,28,29], 理论计算和实验都表明 mG^+ 脱 N^2-H 的产物 $mG(N^2-H)^{\cdot}$ 在 600 nm 附近有吸收峰, 并且 $mG(N^2-H)^{\cdot}$ 光谱^[11,12] 与图 3 中 2 μs 时刻的吸收光谱形状相似. 因此 600 nm 处的吸收峰可归属为 $mG(N^2-H)^{\cdot}$. 可见, 由瞬态吸收光谱可以确定 mG^+ 脱质子的产物是 $mG(N^2-H)^{\cdot}$, mG^+ 脱质子的位点确实是 N^2-H .

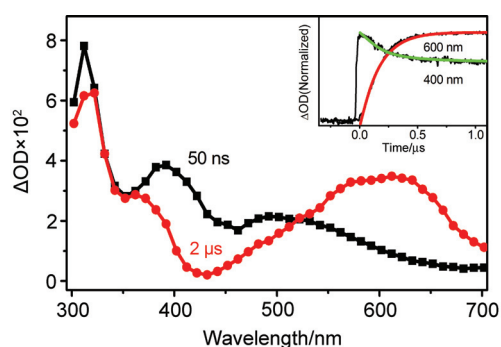


图 3 355 nm 激光光解 mG ($3 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) + $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$ ($400 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 水溶液 ($\text{pH}=7.5$) 在 50 ns (黑色) 及 2 μs (红色) 时刻的光谱. 插图显示的是实验得到的 400 nm 和 600 nm (黑色) 的动力学以及它们的拟合曲线 (分别为绿色和红色)

Figure 3 Transient UV-vis spectra monitored at 50 ns (black square) and 2 μs (red circle) for buffer solution ($\text{pH}=7.5$) of mG ($3 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) + $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$ ($400 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) upon 355 nm laser excitation. Inset: kinetics traces for mG^+ decay at 400 nm and $mG(N^2-H)^{\cdot}$ growth at 600 nm, with the first-order fit to the data (green and red lines)

2.3 mG 中脱 N^2-H 的速率

图 3 的瞬态吸收光谱表明, 600 nm 是脱质子后中性自由基 $mG(N^2-H)^{\cdot}$ 的特征吸收峰. 通过对 600 nm 处动力学的上升过程进行拟合, 可以得到生成 $mG(N^2-H)^{\cdot}$ 的速率常数. 然而, $mG(N^2-H)^{\cdot}$ 的生成包含氧化(反应 2)和脱质子(反应 3)两个步骤. 在 mG 浓度较低的情况下, 如果反应的决速步是 $\text{SO}_4^{\cdot-}$ 氧化 mG (即 $k_3 > k_2[mG]$), 反应 3 中的平衡在氧化过程中就可达到, 脱质子过程(反应 3)将观测不到. 为了区分氧化和脱质子过程, 我们在室温下进行了 $mG(N^2-H)^{\cdot}$ 的生成速率常数随 mG 浓度变化的实验, 得到的结果如图 4 所示. 当 mG 浓度小于 $2 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, $mG(N^2-H)^{\cdot}$ 的生成速率常数与 mG 的浓度成线性关系, 这表明此时反应的决速步是 mG 与 $\text{SO}_4^{\cdot-}$ 的双分子反应. 由直线的斜率可以算得 mG 与 $\text{SO}_4^{\cdot-}$ 双分子反应的二级速率常数为 $(3.7 \pm 0.1) \times 10^9 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$. 当 mG 浓度大于 $2 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, $mG(N^2-H)^{\cdot}$ 的生成速率常数达到最大且不再随浓度变化, 说明此时 mG^+

脱质子过程变成反应的决速步. 平台区 $mG(N^2-H)^{\cdot}$ 生成的速率常数(图 4 红色线段)即是 mG^+ 脱 N^2-H 的速率常数, 为 $(7.2 \pm 0.3) \times 10^6 \text{ s}^{-1}$.

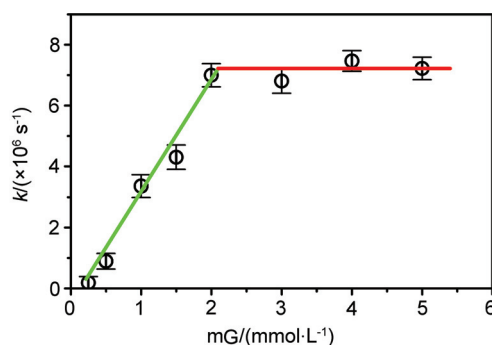


图 4 通过拟合 600 nm 上升动力学得到的 $mG(N^2-H)^{\cdot}$ 生成速率常数随 mG 浓度的变化

Figure 4 mG concentration dependence of $mG(N^2-H)^{\cdot}$ formation rate constant obtained from the increase of the absorbance at 600 nm

根据文献可知, DNA 的 G 碱基被单电子氧化后脱质子 N^1-H 的速率常数为 $1.8 \times 10^7 \text{ s}^{-1}$ ^[13]. 一方面, 我们测得的 mG 脱 N^2-H 的速率常数 ($7.2 \times 10^6 \text{ s}^{-1}$) 比 G^+ 脱 N^1-H 的速率常数小, 与 N^1-H ($\text{pKa}=3.9$) 和 N^2-H ($\text{pKa}=4.7$) 的 pKa 值吻合. 另一方面, G^+ 脱 N^1-H 的速率常数仅是脱质子 N^2-H 的速率常数的 2.5 倍. 因而脱质子 N^2-H 相对于脱 N^1-H , 虽然是次要反应通道, 但也不能被忽略. 在常温水溶液中单电子氧化 G 碱基, Steenken 等^[11] 和 Kobayashi 等^[13] 只观测到脱 N^1-H 的产物, 未能观测到脱 N^2-H 产物, 这可能是由于在水溶液中脱 N^1-H 产物比脱 N^2-H 产物稳定, 脱 N^2-H 产物可以迅速异构化为脱 N^1-H 产物^[17]. 而在低温玻璃态溶液以及固体条件下, 脱 N^2-H 产物无法快速转化为脱 N^1-H 产物^[17], 因而可检测到脱 N^2-H 产物^[18-20], 说明脱质子 N^2-H 产物通道确实存在. 而在 DNA 链中, 由于 N^1-H 和 N^2-H 所处的环境更复杂, G 碱基中 N^1-H 以及 N^2 上的一个氢原子容易形成氢键, 因而 N^2 上另一个自由的氢原子有可能成为主要的脱质子位点. 作为系列研究, 本课题组正在开展关于 DNA 单链, 双链以及四连体中 G 碱基脱质子动力学(脱质子的位点以及速率常数)的研究, 本文的研究结果可为这类 DNA 链中的反应提供有意义的参考.

2.4 脱质子 N^2-H 的活化能

活化能是表征化学反应动力学的一个重要参数, 活化能越低, 化学反应越容易发生, 并且反应的速率越快. 为了更好的表征 mG 中脱 N^2-H 的动力学过程, 我们在不同温度下 (278~298 K) 测量了 mG^+ 脱 N^2-H 速率常数, 从而获得 mG 中脱质子 N^2-H 的活化能. 实验中使用 mG 的浓度为 $3 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, 在此浓度下反应决速步为脱质子过程(如图 4 所示), 由 600 nm 吸收的动力学拟合得到的速率常数对应脱质子速率常数, 而不是氧化速率常数.

不同温度下测得的 600 nm 处光谱的动力学曲线如图 5 所示. 从图 5 中可看出, 随着反应温度的降低, 脱质子的速率常数逐渐变慢. 进一步通过单指数动力学拟合得到不同温度下脱质子的速率常数(如表 1 所示). 根据阿仑尼乌斯方程, 反应速率常数与温度有如下关系(方程 4):

$$\ln k = \ln A - E_a/RT \quad (4)$$

$\ln k$ 对 $1000/T$ 作图(如图 6 所示)符合很好的线性关系, 由直线的斜率可以获得脱质子 N^2-H 的活化能 E_a 为 $19.9 \pm 1.0 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$. 由此可知脱质子 N^2-H 的活化能非常小, 当 mG 碱基被氧化后, 脱 N^2-H 的反应也很容易发生.

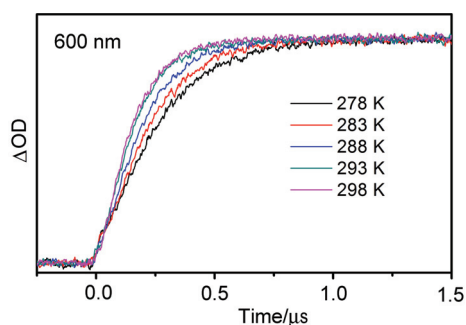


图 5 归一化后不同温度下测得 600 nm 处光谱的动力学曲线
Figure 5 Normalized kinetics curves of the absorbance at 600 nm at different temperatures

表 1 不同温度下的反应时间常数及速率常数

Table 1 Reaction time constants and rate constants obtained at different temperature

T/K	τ/ns	$k/\times 10^6 \text{ s}^{-1}$
298	150 ± 2	6.7 ± 0.1
293	164 ± 4	6.1 ± 0.2
288	194 ± 3	5.1 ± 0.1
283	229 ± 5	4.4 ± 0.1
278	262 ± 5	3.8 ± 0.1

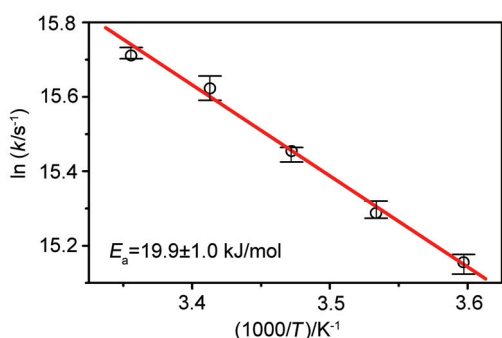


图 6 脱质子速率常数随温度的变化(圆圈所示)及其拟合曲线(红色直线)

Figure 6 Arrhenius plots of the deprotonation rate constants at temperatures in the range of 278~298 K in steps of 5 K, with the activation energy indicated. Solid line is the fitting line

3 结论

在本文中, 我们采用强氧化性自由基 $\text{SO}_4^{\cdot-}$ 氧化 N^1 -甲基鸟嘌呤碱基, 利用瞬态吸收光谱研究了 mG 碱基单电子氧化后发生脱质子 N^2-H 的动力学. 通过时间分辨紫外可见吸收光谱, 我们确认了 mG^+ 脱质子位点是环外的氨基 N^2-H . 测量不同 mG 浓度下中性自由基产物 $\text{mG}(N^2-H)^{\cdot}$ 的生成速率常数, 我们发现当 mG 浓度低于 $2 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, mG 与 $\text{SO}_4^{\cdot-}$ 的双分子反应是生成 $\text{mG}(N^2-H)^{\cdot}$ 的决速步, 双分子反应的速率常数为 $(3.7 \pm 0.1) \times 10^9 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$; 而当 mG 浓度大于 $2 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, mG^+ 脱质子 N^2-H 成为反应的决速步, mG^+ 脱 N^2-H 的速率常数为 $(7.1 \pm 0.2) \times 10^6 \text{ s}^{-1}$. 进一步, 在不同温度下测量 mG^+ 脱 N^2-H 的速率常数, 由阿仑尼乌斯方程得到脱 N^2-H 的活化能为 $19.9 \pm 1.0 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$. 在实验中, 我们将 mG 被氧化生成 mG^+ 的过程与 mG^+ 脱 N^2-H 的过程很好地区分开, 分别得到 mG^+ 的生成速率常数与脱质子速率常数, 同时还获得了脱质子过程的活化能, 为 DNA 碱基的氧化损伤过程提供了更为丰富的动力学信息.

4 实验部分

4.1 不同温度下样品的制备

首先将 mG(BERRY)与 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$ (Sigma)溶于 $50 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 $\text{pH}=7.5$ 的磷酸缓冲溶液(北京索莱宝)中, mG 与 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 的浓度分别为 $3 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $400 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$. 取出 3 mL 溶液放入 $1 \text{ cm} \times 1 \text{ cm}$ 的石英比色皿中, 再将比色皿放入液氮低温恒温器(牛津仪器 Optistat DN)的样品仓中, 通过温度控制器设定实验所用的温度, 恒温 1 h, 以确保样品达到实验所需的温度.

4.2 激光闪光光解

mG 与 $\text{SO}_4^{\cdot-}$ 反应的瞬态紫外可见吸收光谱以及反应的动力学曲线由 Edinburgh LP920 型闪光光解仪测得. 实验中, 采用 Continuum Surelite II 型 Nd:YAG 激光器作为激发光源. 由半高全宽为 7 ns 的 355 nm 脉冲激光激发样品(频率设定为 10 Hz). 检测光源为 450 W 的脉冲氙灯. 单色仪和光电倍增管(R928, Hamamatsu)组成的检测系统采集 300 nm 到 700 nm 范围的紫外可见瞬态吸收光谱. 由光电倍增管输出的随时间变化的信号, 在 100 MHz 的示波器(TDS 3012C, Tektronix)上显示并记录, 然后数据传送到计算机进行处理并储存. 采集到的数据用 LP920 光谱仪自带的软件进行处理. 为了确保实验结果准确可信, 实验数据都是重复三次取平均值.

References

- [1] Lapi, A.; Pratiel, G.; Meunier, B. *Met.-Based Drugs* **2001**, *8*, 47.
- [2] Zhang, Q. H.; Wang, Y.; Liu, C.; Yang, Z. Z. *Acta Chim. Sinica* **2014**, *72*, 956. (张千慧, 王阳, 刘翠, 杨志志, 化学学报, **2014**, *72*, 956.)

- [3] Yin, W. F.; Ou, Z. Z.; Gao, Y. Y.; Hao, P.; Guo, C. L.; Wang, Z. L. *Acta Chim. Sinica* **2010**, *68*, 1343. (殷卫峰, 欧植泽, 高云燕, 郝平, 郭创龙, 王中丽, 化学学报, **2010**, *68*, 1343.)
- [4] Wang, X. X.; Gu, Y.; Chen, D. X.; Fang, Y. F.; Huang, Y. P. *Acta Chim. Sinica* **2010**, *68*, 2463. (王晓星, 顾彦, 陈登霞, 方艳芬, 黄应平, 化学学报, **2010**, *68*, 2463.)
- [5] Lu, Y. M.; Ou, Z. B.; Hu, W.; Le, X. Y. *Acta Chim. Sinica* **2012**, *70*, 973. (卢艳梅, 区志斌, 胡伟, 乐学义, 化学学报, **2012**, *70*, 973.)
- [6] Buxton, G. V.; Greenstock, C. L.; Helman, W. P.; Ross, A. B. *J. Phys. Chem. Ref. Data* **1988**, *17*, 513.
- [7] Misiaszek, R.; Crean, C.; Joffe, A.; Geacintov, N. E.; Shafirovich, V. *J. Biol. Chem.* **2004**, *279*, 32106.
- [8] Jaruga, P.; Dizdaroglu, M. *Nucleic Acids Res.* **1996**, *24*, 1389.
- [9] Steenken, S.; Jovanovic, S. V.; Bietti, M.; Bernhard, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 2373.
- [10] Nguyen, K. V.; Burrows, C. J. *Acc. Chem. Res.* **2012**, *45*, 2151.
- [11] Candeias, L.; Steenken, S. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 1094.
- [12] Candeias, L.; Steenken, S. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 699.
- [13] Kobayashi, K.; Tagawa, S. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 10213.
- [14] Mundy, C. J.; Colvin, M. E.; Quong, A. A. *J. Phys. Chem. A* **2002**, *106*, 10063.
- [15] Wetmore, S. D.; Boyd, R. J.; Eriksson, L. A. *J. Phys. Chem. B* **1998**, *102*, 9332.
- [16] Gervasio, F. L.; Laio, A.; Iannuzzi, M.; Parrinello, M. *Chem.-Eur. J.* **2004**, *10*, 4846.
- [17] Adhikary, A.; Kumar, A.; Becker, D.; Sevilla, M. D. *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 24171.
- [18] Adhikary, A.; Kumar, A.; Munafo, S. A.; Khanduri, D.; Sevilla, M. D. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2010**, *12*, 5353.
- [19] Close, D. M.; Sagstuen, E.; Nelson, W. H. *J. Chem. Phys.* **1985**, *82*, 4386.
- [20] Hole, E. O.; Sagstuen, E.; Nelson, W. H.; Close, D. M. *Radiat. Res.* **1992**, *129*, 1.
- [21] Kobayashi, K.; Yamagami, R.; Tagawa, S. *J. Phys. Chem. B* **2008**, *112*, 10752.
- [22] Kumar, A.; Sevilla, M. D. *J. Phys. Chem. B* **2009**, *113*, 11359.
- [23] Liu, N.; Ban, F. Q.; Boyd, R. J. *J. Phys. Chem. A* **2006**, *110*, 9908.
- [24] Ceron-Carrasco, J. P.; Requena, A.; Perpete, E. A.; Michaux, C.; Jacquemin, D. *J. Phys. Chem. B* **2010**, *114*, 13439.
- [25] Huie, R. E.; Clifton, C. L.; Neta, P. *Radiat. Phys. Chem.* **1991**, *38*, 477.
- [26] Rokhlenko, Y.; Geacintov, N. E.; Shafirovich, V. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 4955.
- [27] Mcelroy, W. J. *J. Phys. Chem.* **1990**, *94*, 2435.
- [28] Chatgililoglu, C.; Caminal, C.; Guerra, M.; Mulazzani, Q. G. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2005**, *44*, 6030.
- [29] Chatgililoglu, C.; D'Angelantonio, M.; Guerra, M.; Kaloudis, P.; Mulazzani, Q. G. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2009**, *48*, 2214.

(Cheng, F.)