应用化学 1992,9(3):114～117·研究简报
*Chinese Journal of Applied Chemistry*

# 顺铂、碳铂与鸟苷、*L*-蛋氨酸反应动力学比较研究

丁道远* 胡皆汉 杨志勇
(中国科学院大连化学物理研究所，大连116012)

**关键词** 顺铂，碳铂，鸟苷，*L*-蛋氨酸，HPLC

自发现顺铂具有抗癌活性以来[1]，人们一直致力于它的抗癌机理研究。很多结果表明顺铂与蛋白质核苷酸(DNA)作用时主要与DNA中鸟嘌呤的$N_7$配位[2]，通过形成链内交联作用造成DNA损伤。顺铂在显示抗癌活性的同时，也表现出较强的毒副作用，有文献认为毒性可能与形成Pt—S键抑制生物体内的巯基酶有关[3-4]。

为了克服顺铂的强肾毒和较差的水溶性，已合成了大量其类似物。碳铂就是一种代表，被列为第二代铂抗癌药。1986年英国已首先批准生产[5]，它的毒性比顺铂低很多。本文从动力学方面考察了两者与鸟苷和*L*-蛋氨酸的反应，以模拟它们与DNA和一些巯基酶的反应，并讨论了活性差异，为设计新药组成提供依据。

## 实 验 部 分

**试剂和药品** 鸟苷为Sigma产品。*L*-蛋氨酸为北京生物物理研究所产品，层析纯。庚烷磺酸钠是天津化学试剂厂产。顺铂、碳铂本实验室合成。其它均为市售分析纯试剂。

**与鸟苷的反应** 体系中顺铂、碳铂和鸟苷浓度均为3.3mmol/L，40±1℃下避光反应。HPLC分析在大连化学物理研究所产高效液相色谱仪上进行。泵压$490\times10^4$Pa(50kg/cm²)，紫外检测254nm。色谱柱YWG-$C_{18}$(φ5×250mm)，流动相为甲醇：0.1mol/L 乙酸铵(pH4.50)为1:9(*V*/*V*)，流速1mL/min。进样量5μL。

**与*L*-蛋氨酸的反应** 实验在50mmol/L的磷酸盐介质(pH7.4)中进行。37±1℃恒温水浴，避光。控制药物的起始浓度为0.5mmol/L，*L*-Met浓度为10.0，20.0，30.0和40.0mmol/L。HPLC分析在Biotronic HPLC系统上进行。泵压$980.7\times10^4$Pa(100kg/cm²)，检测225nm，柱Nuclosil-$C_{18}$ 7μ (φ4.6×150mm)流动相为50mmol/L的磷酸盐(pH2.5)，内含2.5mmol/L庚烷磺酸钠离子对试剂。流速1.5mL/min。进样10μL。

在假一级条件下[*L*-Met]≥20[CDDP]测定了CDDP和CBDCA与L-Met反应的速率常数，动力学方程为[6]

$$-d[CDDP]/dt = k_1[CDDP] + k_2[CDDP][L\text{-Met}] \quad (1)$$

$$-d[CDDP]/dt = k_{obs}[CDDP] \quad (2)$$

$$k_{obs} = k_1 + k_2[L\text{-Met}] \quad (3)$$

现地址：南京大学配位化学研究所，南京210008

测定一定浓度$L$-Met下不同时间的CDDP剩余量，通过$-d[CDDP]/dt \sim [CDDP]$图求$k_{obs}$，再由$k_{obs} \sim C_{L\text{-}Met}$图求得$k_1$和$k_2$。$k_1$是与溶剂和底物有关的常数，实际上为配合物的第一水解常数，与亲核试剂无关。$k_2$为速率常数。浓度以色谱图峰高定量。

## 结果和讨论

**1 与鸟苷的反应** 图1和图2分别为顺铂($cis\text{-}Pt(NH_3)_2Cl_2$)和碳铂($cis\text{-}Pt(NH_3)_2(OOC)_2C_4H_6$)与鸟苷反应的色谱图和紫外图。结果表明两者均能生成1:1产物(Ⅰ)和1:2产(Ⅱ)[7]。

$$Pt(NH_3)_2L_2 \xrightarrow[k_1]{Guo} Pt(NH_3)_2Guo\ L\ (Ⅰ) \xrightarrow[k_2]{Guo} Pt(NH_3)_2Guo_2\ (Ⅱ) \qquad (4)$$

并且是通过$N_7$配位。(Ⅰ)、(Ⅱ)的紫外光谱峰位比Guo的红移了5nm。对于顺铂体系随着反应时间延长出现Ⅲ峰，红移11nm。这可能是$N_1$，$N_7$配位产物[8]。这与该体系此时pH稍降低吻合，$N_1$上质子离去使溶液酸化。值得指出的是它与顺铂不同，碳铂的产物Ⅰ在Guo后出现，这是由于顺铂在色谱中被排斥，而碳铂被保留。

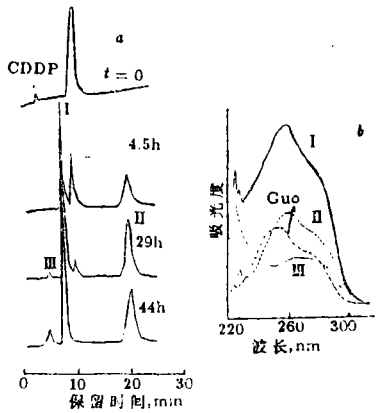



图1 顺铂与鸟苷的反应
*a*. 反应体系色谱图，
*b*. 色谱馏分紫外图
Ⅰ：1:1产物，Ⅱ：1:2产物，Ⅲ：鸟苷$N_7$，$N_1$配位于Pt(Ⅰ)，Guo：鸟苷

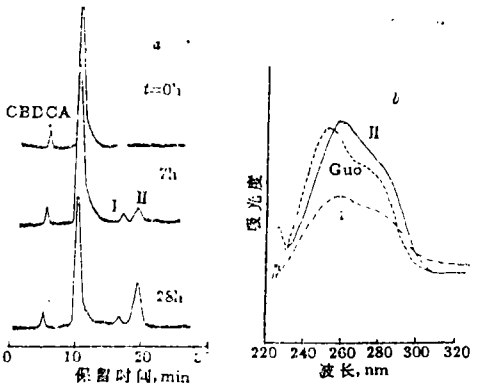



图2 碳铂体系与鸟苷的反应
*a*. 反应体系色谱图，
*b*. 色谱馏分紫外图
Ⅰ：1:1产物，Ⅱ：1:2产物，Guo：鸟苷

图3为鸟苷消耗随时间的变化图。表明顺铂的反应速度明显大于碳铂。Ⅰ和Ⅱ产物生成速率也是如此(图4)。碳铂体系生成Ⅱ明显多于Ⅰ，而顺铂体系中几乎相等。这是由于$k_1$和$k_2$之比不同所致。顺铂的$k_1$和$k_2$相近[9]，而碳铂则$k_2 \gg k_1$，这说明与鸟苷生成Ⅰ后，配体变得更易离去。可以推测，碳铂有利于与DNA发生交联。

**2 与$L$-蛋氨酸反应** 在所研究条件下，顺铂、碳铂和$L$-蛋氨酸的保留时间分别为1.10，2.10和7.20分钟。图5为碳铂与$L$-蛋氨酸的色谱图。由(2)求得一定$L$-蛋氨酸浓度下$k_{obs}$，再由图$k_{obs} \sim C_{L\text{-}Met}$(图6)求$k_1$和$k_2$，结果列于表1。

**表1 顺铂、碳铂与$L$-蛋氨酸反应的$k_1$和$k_2$**

| | $k_1 \times 10^4, s^{-1}$ | $k_2 \times 10^4, M^{-1}s^{-1}$ |
|---|---|---|
| 顺铂 | 2.55 | 361 |
| 碳铂 | 0.010 | 50.0 |

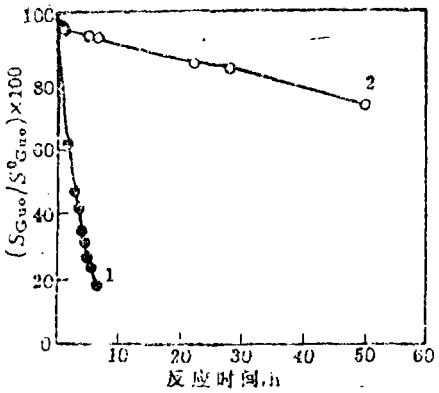



图3 鸟苷消耗与反应时间的关系

$S_{Guo}$，$t$ 时间鸟苷峰面积

$S^0_{Guo}$，初始鸟苷峰面积

●——顺铂　○——碳铂

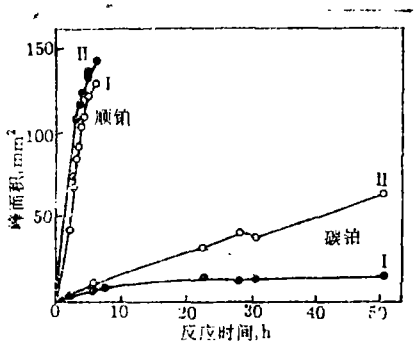



图4 产物Ⅰ和Ⅱ随反应时间的变化

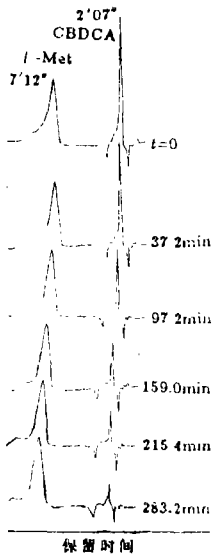



图5 碳铂与$L$-蛋氨酸反应的色谱图

($t$ 为反应时间)

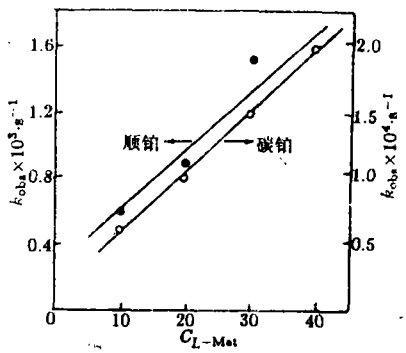



图6 顺铂、碳铂与$L$-蛋氨酸反应的$k\sim C$图

$k_1$代表配合物的第一水解常数，可见顺铂的水解能力明显大于碳铂。而$k_2$代表进行直接取代的二级速率常数。顺铂的是碳铂的7倍。$L$-蛋氨酸以硫与铂配位[10-11]。因此，与顺铂相比，碳铂在受$L$-蛋氨酸中S进攻时，反应速率明显小于顺铂。据此可推测，在与生物体内蛋白酶中S原子配位时，顺铂反应快，表现为毒性大。而碳铂反应速率小，毒性也小。

## 参 考 文 献


1 Rosenberg B, VanCamp L, Trosko J E, et al. *Nature*, 1969,222:385

2 Sherman S E, Lippard S J. *Chem Rev*, 1987,87:1153

3 Deley-Yates P T, McBrien D C H. *Chem Biol Interact*, 1982,40:325

4 Guarino A M. *Cancer Treat Rep*, 1979,63:1475

5 Mauldin S K, Husain I, Sancar A, et al. *Cancer Res*, 1986,46:2876

6 Langford C H, Gray H B. Ligand Substitution Processes, W A Benjamin, NY, 1965

7 Wenclawiak B, Kleibohmerw, Wkrebs, B. *J Chromat*, 1984,296:395
8 曲筠，唐雯霞，戴安邦. 高等学校化学学报，1986,7:287
9 Evelyne Segal, Jean-Bernard Le Pecq. *Cancer Res*, 1985,45:492
10 许善锦，窦培延，俞莉等. 分子科学与化学研究，1984,4:537
11 Appleton T G, Connor J W, Hall J R. *Inorg Chem*, 1988,27:130

（收稿：1991年3月5日，修改稿：1992年1月27日）

# REACTION KINETICS OF CDDP, CBDCA WITH GUANOSINE AND *L*-Met

Ding Daoyuan*, Hu Jiehan, Yang Zhiyong
*(Dalian Institute of Chemical Physics, Academia Sinica, Dalian 116012)*

The reaction kinetics of CDDP (cisplatin), CBDCA (carboplatin) with guanosine and *L*-Met are compared by means of HPLC. The results show that the reaction rate of CDDP with Guo is greater than that with CBDCA. However, CBDCA gave more 1:2 products with Guo than 1:1 products and its second hydrolysis rate constant $k_2$ is much greater than its first one $k_1$.

For reactions of CDDP and CBDCA with *L*-Met the second rate constants are measured as $36.1\times10^{-3}$ and $5.0\times10^{-3}M^{-1}s^{-1}$, respectively. This may be one of the reasons that CBDCA shows less nephrotoxicity than CBDP.

**Keywords:** cisplatin(CDDP), carboplatin(CBDCA), guanosine, *L*-Met, HPLC