

## 含有机配体的活性双过氧钒配合物与组氨酸的相互作用研究

周兴旺<sup>a, b</sup> 叶剑良<sup>a</sup> 陈忠<sup>\* , a, c</sup> 陈志伟<sup>a</sup> 黄培强<sup>a</sup>  
(厦门大学<sup>a</sup> 化学系<sup>b</sup> 生物系<sup>c</sup> 物理系 表面物理化学国家重点实验室 厦门 361005)

**摘要** 在合成和表征了4种具有较强生物活性双过氧钒配合物  $K_3[VO(O_2)_2(ox)] \cdot 2H_2O$ ,  $Na[VO(O_2)_2(bipy)] \cdot 5H_2O$ ,  $K[VO(O_2)_2(phen)] \cdot 3H_2O$  和  $K_2[VO(O_2)_2(pic)] \cdot 2H_2O$  [分别缩写为 pV(ox), pV(bipy), pV(phen) 和 pV(pic), 其中 ox 为草酸根, bipy 为 2,2'-联吡啶, phen 为邻菲咯啉, pic 为 2-羧酸吡啶负离子] 的基础上, 利用多种 NMR 技术和电喷雾质谱 (ESFMS) 研究了这4种含有机配体双过氧钒配合物与组氨酸 (His) 在溶液中的相互作用以及反应物浓度、时间、pH 等对相互作用体系的影响。<sup>51</sup>V NMR 跟踪监测的结果表明: 双过氧钒配合物 pV(ox) 和 pV(pic) 与 His 在中性水溶液中存在强配位相互作用, 而 pV(bipy) 和 pV(phen) 与 His 在中性水溶液中无明显作用。我们还利用谱学方法确定了 pV(ox) 和 His 相互作用后所生成产物是 pV(ox) 分别与 His 咪唑基上的 3-N 和 1-N 配位的一对异构体。

**关键词** 双过氧钒配合物, 组氨酸, 相互作用, 核磁共振, 电喷雾质谱

## Studies on the Interactions between Bioactive Peroxovanadium Complexes Bearing Organic Ligands and Histidine

ZHOU, Xing-Wang<sup>a, b</sup> YE, Jian-Liang<sup>a</sup>CHEN, Zhong<sup>\* , a, c</sup> CHEN, Zhi-Wei<sup>a</sup> HUANG, Pei-Qiang<sup>a</sup>

(<sup>a</sup>Department of Chemistry, <sup>b</sup>Department of Biology, <sup>c</sup>Department of Physics, Xiamen University, State Key Laboratory for Physical Chemistry of Solid Surface, Xiamen 361005)

**Abstract** In order to explore the structure-activity relationship and molecular mechanism of the specific recognition between peroxovanadium (pV) complexes bearing organic ligands and the target enzymes of tyrosine phosphatase, several NMR techniques and ESFMS were used to study the interactions of four pV complexes {pV(ox), pV(bipy), pV(phen) and pV(pic), where pV = [VO(O<sub>2</sub>)<sub>2</sub>L]<sup>n-</sup>, in which L = oxalic acid dianion (ox), bipyridine (bipy), 1,10-phenanthroline (phen), and pyridine-2-carboxylic acid (pic)} towards histidine. Strong coordination interactions between imidazole of histidine and vanadium of pV(ox) or pV(pic) were observed in neutral solution, while there are not obvious interactions between histidine and pV(bipy) or pV(phen). All <sup>13</sup>C and <sup>1</sup>H NMR signals of 1:1 stoichiometric mixture of pV(ox) and histidine were assigned. Spectroscopic studies demonstrated that new complexes in the mixture of pV(ox) and histidine are a pair of isomers in which the vanadium in pV(ox) binding to the 3-N and 1-N of the imidazole ring. Moreover, the results of effective factors on the interaction system indicated that the new isomers were stable under the condition of physiological pH and the structure-activity relationship of these pV complexes may be relevant to their specific recognition towards histidine residues in tyrosine phosphatase.

**Key words** peroxovanadium, histidine, interaction, NMR, ESFMS

\* E-mail: chenz@jingxian.xmu.edu.cn

Received September 29, 2001; revised December 27, 2001; accepted February 22, 2002.

国家自然科学基金 (Nos. 20172042, 29832020) 资助项目.

由于作为体内酪氨酸磷酸酶抑制剂的过氧钒配合物很可能发展成为一类新型口服降血糖药物,因此已引起广泛关注<sup>[1-3]</sup>.对过氧钒配合物体内作用的靶酶(酪氨酸磷酸酶,缩写为BPTase)的结构功能和催化机制的研究表明:在该酶中作为底物结合基团的 Cys-12 和作为催化反应中氢质子提供者的 Asp-129,是酶活性最为必需的<sup>[4]</sup>(钒酸盐就是通过 BPTase 活性中心 Cys-12 配位而抑制靶酶活性<sup>[5]</sup>).过氧钒配合物的类胰岛素作用主要是通过不可逆氧化靶酶活性中心 Cys-12 的巯基而起抑制作用<sup>[6]</sup>.此外,由于酶活性中心附近的 His-72 和 His-66 (分别距离活性中心 0.9 nm 和 1.8 nm)和附近的负电性基团(如 Gu 或 Asp)存在静电作用,因而对维持酶活性中心的空间结构也起着十分重要的作用<sup>[7]</sup>.

通过对 4 种含有机配体双过氧钒配合物对靶酶抑制能力的生物活性研究,我们提出了有机配体对双过氧钒配合物的生物活性具有调节作用的观点<sup>[8]</sup>.最近, Ballistreti 等研究了此类双过氧钒配合物对半胱氨酸的氧化作用<sup>[9]</sup>,其结果印证了我们所提出的观点.考虑到小分子酶抑制剂与生物体靶酶相互作用的复杂性和含钒配合物的灵活配位能力<sup>[10]</sup>,我们认为:此类双过氧钒配合物对靶酶的抑制作用除了氧化其活性中心的半胱氨酸残基外,可能还与其能特异性识别靶酶的其他活性必需残基有关<sup>[8]</sup>.组氨酸(His)中的咪唑基是酪氨酸磷酸酶的活性必需功能基团<sup>[11]</sup>,且酸性磷酸酶中的 His 残基对钒原子有很强的亲和性(如五价钒酸盐中的钒可配位结合小鼠前列腺酸性磷酸酶活性中心 His-12 的咪唑基而抑制该酶活性<sup>[12]</sup>).考虑到 His 残基在酪氨酸磷酸酶中的重要性和 His 的咪唑基与钒有较强配位能力,本文选择组氨酸与 4 种含有机配体的双过氧钒配合物为研究对象,利用多种 NMR 技术和 ESI-MS 研究它们在溶液中的相互作用.通过对 pV(ox) 与 His 相互作用的研究,提出它们相互作用的模式,并用谱学手段详细表征了新生成配合物的结构.最后联系该类双过氧钒配合物对靶酶的生物活性测试结果,讨论其构效关系.

## 1 实验部分

### 1.1 仪器和试剂

图 1 所示的 4 种双过氧钒配合物的结构可表示为  $[VO(O_2)_2L]^{n-}$ , 这里 L = oxalic acid dianion (ox), bipyridine (bipy), 1, 10-phenanthroline (phen) 和 pyridine-2-carboxylic acid (pic). 它们分别缩写为

pV(ox), pV(bipy), pV(phen) 和 pV(pic). 按前文<sup>[8]</sup>方法合成并详细表征<sup>[13]</sup>. His 和 HEPES 缓冲液为华美生物工程公司进口分装产品.  $V_2O_5$  为上海试剂三厂生产,有机配体等为上海试剂一厂生产,均为分析纯试剂;重水为北京化工厂生产.主要测试仪器: Varian Unity<sup>+</sup> 500 M 超导核磁共振仪、Finnigan MAT LCQ 质谱仪、PHS-3C 型精密酸度计等.溶剂为重水或含 20 mmol L<sup>-1</sup> HEPES 的重水缓冲液(pH 6.8,未校正),<sup>51</sup>V 化学位移以  $VOCl_3$  (化学位移为 0) 为外标.<sup>51</sup>V NMR 谱的主要测试参数如下:脉冲宽度 3.0  $\mu$ s,谱宽 79 kHz,采样时间 0.2 s,脉冲重复时间 0.4 s,累加 400 次,采样数据点 32000.<sup>1</sup>H NMR 谱的主要参数如下:脉冲宽度 5.0  $\mu$ s,谱宽 5 kHz,采样时间 2 s.<sup>13</sup>C NMR 谱的主要参数如下:脉冲宽度 6.0  $\mu$ s,谱宽 50 kHz,采样时间 0.6 s,脉冲重复时间 1.0 s,累加 4000 次,采样数据点 64000.<sup>51</sup>V NMR 谱用 10 Hz 线性展宽因子进行傅立叶变换,对谱线进行基线校正后再积分,必要时对图谱峰去卷积处理后再积分. MS 实验选用阳离子模式采样,电喷雾(ESI)源离子化,双重蒸馏水为溶剂.

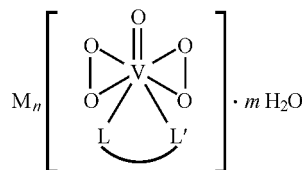


图 1 双过氧钒配合物的化学结构

Figure 1 Chemical structures of pV complexes

M = K, Na,  $L = ox, bipy, pic, phen; n = 1 \sim 3, m = 2, 3, 5$

## 2 结果与讨论

### 2.1 4 种双过氧钒配合物与组氨酸相互作用的<sup>51</sup>V NMR 研究

在含 20 mmol L<sup>-1</sup> HEPES 的重水缓冲液中(pH 6.8),分别测定 4 种双过氧钒配合物和 His 分别与 1:1 混合(物质的量比,下同)的<sup>51</sup>V NMR 谱,结果见图 2 所示.图 2a ~ 2d 中化学位移 -742, -746, -743 和 -734 处的峰分别为单一配合物 pV(phen), pV(bipy), pV(pic) 和 pV(ox) 的钒谱峰<sup>[10]</sup>. pV(phen) 和 pV(bipy) 与 His 混合后的钒谱没有明显变化(见图 2a 和 2b),说明在此条件下, pV(phen) 和 pV(bipy) 与 His 没有发生较强的相互作用.对于

pV(pic), 在 - 737 和 - 745 处分别出现新峰(见图 2c). 对于 pV(ox), 在 - 745 处明显出现新峰(见图 2d). 说明 pV(pic) 和 pV(ox) 与 His 发生了较强的相互作用, 新出现的峰可能是 pV(pic) 和 pV(ox) 与 His 配位后所生成新配合物的<sup>51</sup>V 峰. 文献[14]报道, 在生理 pH 的水溶液中双过氧钒水合配合物[缩写为 pV(H<sub>2</sub>O)]与氨基酸的末端氨基发生配位反应, 生成新配合物的化学位移为 - 744 或 - 767, 而与氨基酸的末端羧基配位生成新配合物的化学位移则在 - 714 附近. 相对末端氨基和羧基上的 N 和 O 原子, His 的功能基团咪唑基上的 N 更容易与 pV(H<sub>2</sub>O) 发生配位反应, pV(H<sub>2</sub>O) 与 His 咪唑基作用后分别在 - 737 和 - 748 处生成新的配位峰<sup>[14]</sup>. 为此可以推断: 图 2c 中, 在 - 737 和 - 745 处产生的新配位峰可能是由 pV(pic) 与 His 咪唑基上的 N 配位生成; 图 2d 中, - 745 的峰则可能为 pV(ox) 与 His 咪唑基上的 N 配位生成的新配位峰. 此外, 我们还发现这 4 种双过氧钒配合物与 His 分别以 1:3 和 3:1 混合后的钒谱的谱峰数目和化学位移值与 1:1 混合的情况相同. 这说明了在这范围内改变反应物的比例对生成新配合物的定性研究影响不大.

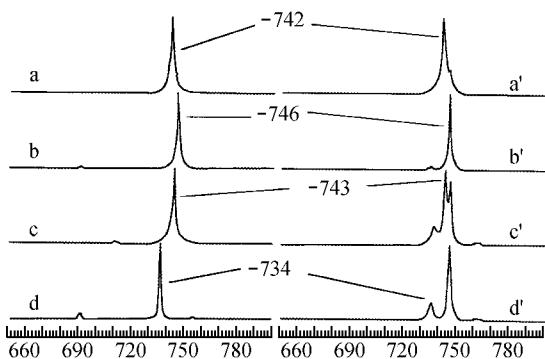


图 2 4 种双过氧钒化合物以及其与组氨酸混合物的<sup>51</sup>V NMR 图

Figure 2 <sup>51</sup>V NMR spectra of four pV complexes and corresponding mixtures of these pV complexes and His (a ~ d)  
a → pV(phen); b → pV(bipy); c → pV(pic); d → pV(ox)

## 2.2 pV(ox) 与 His 的相互作用研究

在本文讨论的 4 种双过氧钒配合物中, pV(ox) 对酪氨酸磷酸靶酶的抑制能力最强<sup>[8]</sup>. 上述的<sup>51</sup>V NMR 研究已表明: pV(ox) 与 His 存在很强的配位相互作用. 考虑到 pV(ox) 对靶酶的强抑制能力可能与此有关, 因此, 本文应用 NMR 和 MS 技术对 pV(ox) 与 His 相互作用的模式和生成配合物的结构和性质进行更深入的研究.

### 2.2.1 pV(ox) 与组氨酸的相互作用模式及新生成配合物化学结构的谱学表征

在进行<sup>1</sup>H NMR 实验时, 我们直接用 D<sub>2</sub>O 作溶剂, 而未用缓冲液是基于如下的考虑: 包括磷酸缓冲液内的许多生物缓冲液会与本文所研究的钒化合物发生相互作用, 从而干扰对体系的研究和测定. 目前发现不与钒作用的最好的生物缓冲液是 HEPES 缓冲液, 但 HEPES 缓冲液本身的氢信号会影响对所研究体系氢信号的归属. 一般情况下 pH 值变化会影响化学位移值, 但在本文实验过程中 pH 值变化范围不大. 实验结果表明: 该相互作用体系在 pH 6.8 HEPES 重水缓冲溶液中和在纯重水溶液中除了前者的<sup>1</sup>H NMR 和<sup>13</sup>C NMR 谱中多出相应的 HEPES 峰外, 其 NMR 谱图基本相同. 为此, 为减少谱图中的干扰峰, 我们选定重水为溶剂. 我们分别测定了 pV(ox) 的碳谱<sup>[13]</sup>, His 的氢谱和碳谱(与文献[16]报道的相同) 以及两者按 1:1 混合后的氢谱、碳谱、<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY、<sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C HMQC 谱<sup>[15]</sup> 和 ESFMS ({ K<sub>3</sub>[pV(ox)] · His} · 2H<sub>2</sub>O) (m/z 528.3, 17%), K<sub>3</sub>[pV(ox)] · 2H<sub>2</sub>O (m/z 373.2, 19%), pV(H<sub>2</sub>O) · His (m/z 305.5, 100%), His (m/z 156.3, 38%).

由图 2 可知, 新配合物是由 pV(ox) 中的钒原子与 His 配位相互作用而产生的, 由于 pV(ox) 中钒原子已处于七配位的饱和配位态, 因此其它配体分子要与其发生配位作用, 必须与双过氧钒配合物中原有配体竞争, 即原有的部分配体须脱下. 我们先假设了所有可能的配位方式, 然后分析比较 His 的碳谱和氢谱, pV(ox) 的碳谱以及 pV(ox) 与 His 混合溶液的碳谱和氢谱. 在排除不合理的配位方式后, 我们认为最可能的配位方式为: His 咪唑基上两个 N 分别与 V 配位(原有有机配体草酸的两个配位点中的一个被竞争取代)而形成了两个新配合物(见图 3). 在 pV(ox) 中, 草酸配体是以扭曲的形式存在, 存在不稳定性<sup>[9]</sup>, 因而被其它配体(如 His 中有强配位能力咪唑环上的 N)竞争取代是可能的. 图 4 的碳谱中, 最低场有 173.9, 173.4 和 168.1 三个信号峰, 与前文<sup>[13]</sup>报道的重水中 pV(ox) 草酸配体的碳谱数据 173.0 和 167.6 以及游离草酸的碳谱数据 161.3 比较可知, His 和 pV(ox) 作用后形成新配合物中草酸配体未完全脱下(谱图中未见到游离草酸 161.3 的峰). 173.9 峰可归属为两个新配合物的草酸配体上与 V 直接配位羧基(与钒配位引起化学位移向低场移动)和 His 的羧基的碳; 而草酸配体上不直接与 V 直接配位碳的信号都出现在 173.4; 未参与配位反应的残余 pV(ox) 草酸配体的两个羧基碳出现在谱

图中 168.1 和 173.4. 此外,  $pV(ox)$  与 His 以 1:3 混合后, 我们发现相对于 173.4 峰, 碳谱中位于 173.9 羧基峰的强度明显增强, 而位于 168.1 羧基峰的强度明显减弱. 173.9 峰的明显增强可能只是说明了体系中 His 酸量的增加, 而未必能说明了新配合物的生成量增加. 另一方面,  $pV(ox)$  上 168.1 羧基峰强度的明显减弱说明了反应向新配合物的生成量增加的方向进行, 从而验证了我们对化合物结构的归属.

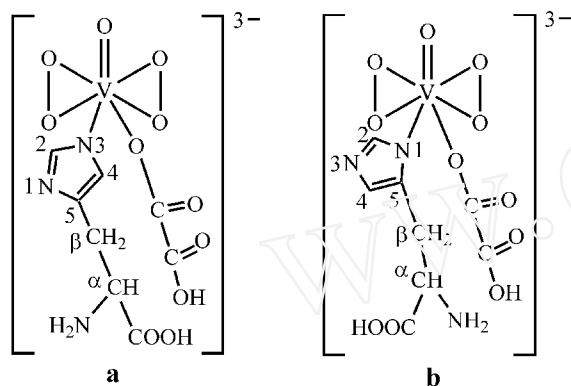


图3  $pV(ox)$  与 His(1:1) 相互作用后新形成一对异构体配合物 a 和 b

Figure 3 New isomers after interactions between  $pV(ox)$  and His

由于组氨酸和草酸的 $^1H$ 和 $^{13}C$ 归属比较简单, 这样可以先归属游离组氨酸和草酸, 然后再借助二维 $^1H-^1H$  COSY 谱、 $^1H-^{13}C$  HMQC 谱及不同比例  $pV(ox)$  和 His 混合时氢谱中各谱峰相对积分面积的变化, 可以合理归属相互作用体系中所有的氢谱和碳谱信号(见表1). 与 His 以 1-N 连接配位(图3产物 b)相比, 以 3-N 连接的产物 a 为优势配位产物. 这可以从 $^1H$  NMR 数据上获得证据, 对照表1和

图5,  $^1H$  NMR 化学位移低场区(7.0~8.5)的6条单峰可分别指认为两个一组的三组6个氢. 根据  $pV(ox)$  和组氨酸混合溶液 $^1H-^1H$  COSY 谱在低场区得到的相关峰, 并参考重水中组氨酸的文献数据<sup>[16]</sup>, 可将这6条峰归属如下: 8.29和7.40分别为组氨酸以 3-N 连接配位形成的新配合物咪唑环上的2位和4位氢; 8.06和7.34分别为 1-N 连接配位的新配合物的咪唑环上2位和4位氢; 7.97和7.14为未发生配位作用的游离组氨酸咪唑环的2位和4位氢. 由于组氨酸以 3-N 连接配位(图3a)比以 1-N 配位(图3b)具有更小的空间位阻, 因此 3-N 连接配位的产物 a 为优势配位产物. 这在图5中表现为氢谱中 8.29和7.40峰的积分面积明显比 7.97和7.14的大. 化学位移为 4.16, 4.06和4.02的多重峰分别为配合物 b, a 和残留的游离组氨酸 $\alpha$ -碳上的单氢所产生的. 显然, 优势配位 3-N 连接 $\alpha$ -氢(4.06)的积分面积比 1-N 连接配位的 $\alpha$ -氢(4.16)大得多. 化学位移 3.0~3.7 范围的多重峰为 3 组组氨酸 $\beta$ -碳上 $CH_2$ 所产生. 根据  $pV(ox)$  和组氨酸混合物 $^1H-^1H$  COSY 高场区中与 $\beta$ -氢的相关峰可将它们归属如下: 3.38和3.32为 3-N 连接配位 $\beta$ -碳上的两个氢; 3.63和3.36为 1-N 连接配位 $\beta$ -碳上的双氢(其中 3.36峰与 3-N 配位的 3.38峰叠在一起); 3.25和3.18则为游离组氨酸 $\beta$ -碳上的两个氢. 将  $pV(ox)$  与 His 混合体系氢谱全归属后, 由 $^1H-^{13}C$  HMQC 的相关峰就可以归属除季碳外所有的碳信号; 咪唑环上季碳信号的归属则由 HMBC 中咪唑环上4-位质子与季碳的远程相关峰得到归属(详见图4中的标示). 由以上 NMR 谱学数据和分析表明  $pV(ox)$  和 His 相互作用后生成了新的配合物. 此外, ES/MS 中出现有  $m/z$  528.3 的质谱峰 $\{K_3[pV(ox) \cdot (His)] \cdot 2H_2O\}$ 也提供了佐证.

表1 配合物 a 和 b 的 $^1H$ 和 $^{13}C$  NMR 谱峰归属

Table 1 Assignment of  $^1H$  and  $^{13}C$  NMR of a and b compounds

	Histidine		Compound a		Compound b		$pV(ox)$
	C	H	C	H	C	H	C
2-C	136.1	7.97	137.9	8.29	137.9	8.06	
4-C	117.4	7.14	125.7	7.40	117.8	7.34	
5-C	131.2		126.3		134.2		
$\alpha$ -C	54.6	4.02	54.2	4.06	54.6	4.16	
$\beta$ -C	27.8	3.25, 3.18	26.2	3.38, 3.32	28.4	3.63, 3.36	
$O_2CCO_2$	173.9		173.9, 173.4		173.9, 173.4		173.4, 168.1

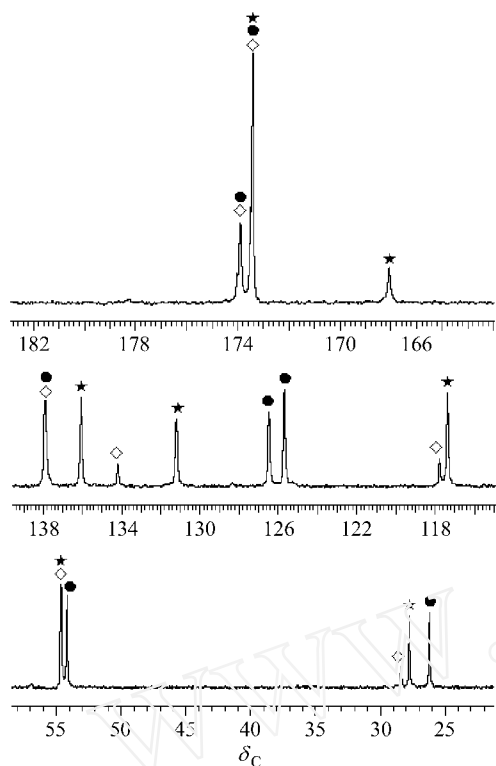


图4 pV(ox)和His (1:1)混合物的碳谱及其归属

Figure 4  $^{13}\text{C}$  NMR spectrum of the mixture of pV(ox) and His (1:1)

—dominating 3-N linkage isomer; —1-N linkage isomer; —free ligand

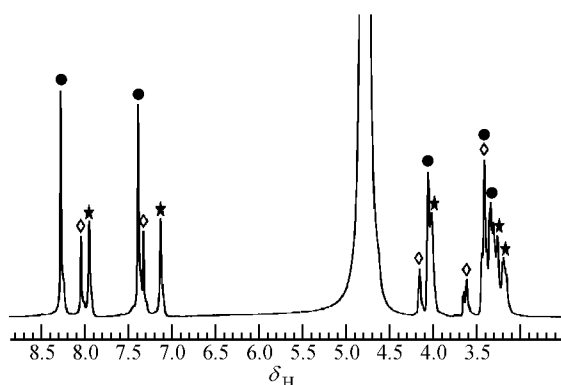


图5 pV(ox)和His (1:1)混合物的 $^1\text{H}$  NMR谱及其归属

Figure 5  $^1\text{H}$  NMR spectrum of the mixture of pV(ox) and His (1:1)

—dominating 3-N linkage isomer; —1-N linkage isomer; —free ligand

### 2.2.2 相互作用的反应平衡及其新配合物的性质研究

我们在浓度均为  $0.2 \text{ mol L}^{-1}$  的 pV(ox)/His 的 pH 6.8 HEPES 重水溶液中分别精确加入 0, 50, 100, 150, 200  $\mu\text{L}$  的  $0.2 \text{ mol L}^{-1}$  His 的 pH 6.8 HEPES 重

水溶液,用 $^{51}\text{V}$  NMR 谱监测该相互作用的反应过程.随着 His 的量逐渐加大,图 1d 中  $\delta$  - 745 峰(新配合物峰)的相对积分面积逐渐加大,而  $\delta$  - 734 峰[游离的 pV(ox) 峰]的相对积分面积逐渐减小,表明了增加 His 的量有利于新配合物的生成.

为了研究新配合物在 pH 6.8 HEPES 的重水缓冲液中的稳定性,我们在 24 h 内每隔 4 h 测定 pV(ox)与 His (1:1)混合物 pH 6.8 的 $^{51}\text{V}$  NMR 谱.结果表明: $\delta$  - 745 峰的位置和相对积分面积比例基本上没变化,也没出现其它峰.说明新生成的一对异构体配合物在 24 h 内可以稳定存在,这样从实验时间较长的 HMQC 和 HMBC 等实验所得到的数据是可信的.

此外,我们还测定了同样浓度 pV(ox)与 His (1:1)混合物在 pH 5.0 和 pH 10.0 重水溶液中的钒谱.在 pH 5.0 时,虽然钒峰的数目和化学位移基本上无变化,但在  $\delta$  - 745 的峰所占的相对比例与在 pH 中性重水中相应谱图相比明显减少(相对积分面积从 60% 降至 27%).说明在酸性条件下,pV(ox)与 His 的强配位相互作用减弱.在 pH 10.0 时,除  $\delta$  - 745 峰外(相对积分面积约占 26%),还有  $\delta$  - 760 新峰生成(相对积分面积约占 20%).新的峰可能是 pV(ox)与末端氨基配位的峰<sup>[14]</sup>,因为在碱性条件下末端氨基去质子化而增强了其配位能力.

### 3 总结与讨论

在生理 pH 条件下,本文所述的 4 种 pV 配合物中,有机配体以氮与钒双齿配位的 pV(phen)和 pV(bipy)与 His 基本上无配位作用,而以氧氧和氧氮与钒双齿配位的 pV(ox)和 pV(bipy)则与 His 有较强的配位作用.现在我们分析对比这 4 种含有机配体双过氧钒配合物化学结构的异同点.在 pV(phen)和 pV(bipy)中是以给电子能力较强的氮与钒配位,其与钒结合较牢而不易脱离.在 pV(pic)和 pV(ox)中是以给电子能力较弱的氧与钒配位,显然其与钒结合较弱而易被其它基团竞争取代而脱离.这样 His 就可通过咪唑基上具有强配位能力的氮与 pV(pic)和 pV(ox)上原有有机配体竞争配位;而对于 pV(phen)和 pV(bipy),因原有的有机配体结合较牢,故其与 His 基本无配位.对照我们在生物活性测试<sup>[8]</sup>得到的这 4 种双过氧钒配合物对靶酶抑制强度的强弱顺序: pV(ox) > pV(pic) > pV(bipy) > pV(phen).本文的化学研究结果与其生物活性的强弱具有一定的平行相关性,即与 His 存在强配位相

互作用的 pV(ox) 和 pV(pic) 对磷酸靶酶的识别抑制能力强于弱相互作用的 pV(bipy) 和 pV(phen). 为此, 含有机配体双过氧钒配合物与酪氨酸磷酸靶酶中组氨酸的配位能力的强弱可能会影响其生物活性.

## References

- 1 Crans, D. C. *J. Inorg. Biochem.* **2000**, *80*, 123.
- 2 Posner, B. I.; Faure, R.; Burgess, J. M. *J. Biol. Chem.* **1994**, *269*, 4594.
- 3 Bhattacharyya, S.; Tracey, A. S. *J. Inorg. Biochem.* **2001**, *85*, 9.
- 4 Denu, J. M.; Lohse, D. L.; Vijayalakshmi, J.; Saper, M. A.; Dixon, J. E. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1996**, *93*, 2493.
- 5 Zhang, M.; Zhou, M.; Van Etten, R. L. *Biochemistry* **1997**, *36*, 15.
- 6 Hoyer, G.; Liu, S.; Kelly, J. *J. Biol. Chem.* **1997**, *272*, 843.
- 7 Tishmack, P. A.; Bashford, D.; Van Etten, R. L. *Biochemistry* **1997**, *36*, 11984.
- 8 Zhou, X.-W.; Chen, Z.; Chen, Q.-X.; Ye, J.-L.; Huang, P.-Q.; Wu, Q.-Y. *Acta Biochim. Biophys. Sin.* **2000**, *32*, 133 (in Chinese).  
(周兴旺, 陈忠, 陈清西, 叶剑良, 黄培强, 吴钦义, 生物化学与生物物理学报, **2000**, *32*, 133.)
- 9 Ballistreri, F. P.; Barbuzzi, E. G. M.; Tomaselli, G. A.; Toscano, R. M. *J. Inorg. Biochem.* **2000**, *80*, 173.
- 10 Slebodnick, C.; Hamstra, B. J.; Pecoraro, V. L. *Struct. Bonding* **1997**, *89*, 51.
- 11 Logan, T.-M.; Zhou, M.-M.; Van Ritten, R. L. *Biochemistry* **1994**, *33*, 11087.
- 12 Lindqvist, Y.; Schneider, G.; Vihko, P. *Eur. J. Biochem.* **1994**, *221*, 139.
- 13 Zhou, X.-W.; Ye, J.-L.; Chen, Z.; Chen, Z.-W.; Yu, L.-J.; Huang, P.-Q.; Wu, Q.-Y. *Chin. J. Struct. Chem.* **2000**, *19*, 343.
- 14 Tracey, A. S.; Jaswal, J. S. *Inorg. Chem.* **1993**, *32*, 4235.
- 15 Ye, J.-L.; Zhou, X.-W.; Chen, Z.; Chen, Z.-W.; Huang, P.-Q. *Chin. Chem. Lett.* **2001**, *12*, 987.
- 16 Wuthrich, K. *NMR of Proteins and Nucleic Acids*, Wiley, New York, **1986**.

(A0109297 CHENG, B.; ZHENG, G. C.)