

三吡啶胺和四齿链酚胺配体与 Cu(II)配位性质 及其配合物催化酯水解研究

解永树^{1,*} 寇福平² 林瑞森² 刘清亮¹

(¹ 中国科技大学化学系, 合肥 230026)

(² 浙江大学化学系, 杭州 310027)

运用 pH 电位滴定法, 在 $25 \pm 0.1^\circ\text{C}$, $I = 0.1(\text{KNO}_3)$ 条件下, 研究了 Cu(II) 与三吡啶胺(L¹) 和 N-(2'-羟基苄基)-二乙三胺(HL²) 的配位行为。结果表明, L¹ 以二齿的形式和 Cu(II) 形成稳定的 2:1(L:M) 配合物。其配位水分子的离解常数 pK_a 为 7.54。对于 HL², 三个氮原子和酚氧负离子与 Cu(II) 配位, 酚羟基离解常数 pK_a 为 4.44。在 $25 \pm 0.1^\circ\text{C}$, $I = 0.1(\text{KNO}_3)$ 条件下, pH = 6~9 (50 mol · L⁻¹) 范围内, 用紫外-可见分光光度法研究了 L¹ 的 Cu(II) 配合物催化对-硝基苯酚乙酸酯(NA) 水解动力学行为, 发现配合物催化 NA 酯水解反应速率常数 k_{NP} 与溶液 pH 呈 Sigmoidal 型曲线, k_{NP} 最大值为 $2.53 \times 10^{-2} \text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ 。说明 L¹ 的 Cu(II) 配合物中的 Cu(II)-OH⁻ 是有效的亲核试剂, 对底物 NA 酯的水解有较好的催化作用。

关键词: 金属水解酶 亲核试剂 催化水解
分类号: O614.12

对金属水解酶催化功能的模拟是一热门课题^[1-3]。不同 Cu(II) 配合物被用作这类酶的模拟物, 较深入地探讨了其催化机理^[4-7]。其中 Chin^[5] 发现二吡啶胺与 Cu(II) 形成的 1:1 配合物在较温和的条件下 (pH ≈ 7, 25°C) 对酰胺类水解有很好的催化作用。

作者曾研究过三吡啶胺(L¹) Zn(II) 配合物配位性质、催化对-硝基苯酚乙酸酯(NA) 水解行为^[8], 结果表明该配合物在中性 pH 下有一个配位水分子离解生成配位羟基 Zn(II)···OH, 并以此作为亲核试剂, 对酯的水解有很好的催化效果。三吡啶胺是二吡啶胺的衍生物, 但是它与 Cu(II) 离子配位热力学及其配合物的催化行为尚未见报道, 本文对此进行了研究。

酚胺型配体的酚羟基配位后离解生成的配位酚氧负离子 M(II)···OAr 也是有效的亲核试剂, 对 NA 酯水解有一定的催化作用^[9,10]。因此本文还研究了一个链式酚胺型四齿配体 N-(2'-羟基苄基)-二乙三胺(HL²) 与 Cu(II) 的配位性质及其配合物催化 NA 酯水解行为, 并通过这两种配合物以及金属水解酶的比较, 探讨金属离子在金属水解酶中的作用。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

NaOH 为分析纯试剂。Cu(NO₃)₂ 为优级纯试剂, 溶液浓度采用 EDTA 容量法标定。KNO₃、三-(羟甲基)氨基甲烷(Tris) 等为分析纯试剂, 经二次重结晶提纯。2-(N-吗啉代)乙烷磺酸(MES) 为 FLUKA 公司试剂 (> 99%), N-2-羟乙基哌嗪-N'-2-乙烷磺酸(HEPES) 为香港

收稿日期: 1999-09-09。收修改稿日期: 1999-12-20。

国家自然科学基金资助项目(No. 29773041)。

* 通讯联系人。

第一作者: 解永树, 男, 28 岁, 博士后; 研究方向: 生物无机化学。

FARCO 公司的分析纯试剂。CH₃CN 为分析纯试剂并经 CaH₂ 干燥后在氮气气氛中保存。三吡啶胺和 N-(2'-羟基苄基)-二乙三胺的合成见文献^[11, 12]。实验用二次蒸馏水, 称量法配制溶液。

Perkin-Elmer 240C 型元素分析仪, Nicolet 170 SXFT 红外光谱仪 (KBr 压片, 400~4600 cm⁻¹), Bruker AM-200 核磁共振仪 (D₂O 为溶剂), Beckman φ71 型 pH 计, 配有 Beckman 39841 型复合电极, Shimadzu UV-Vis 260 型分光光度计。配合物 EPR 测试在 Bruker ER200-D-SRC10 上进行 (水为溶剂)。

1.2 [Cu(L¹)₂](ClO₄)₂ · 4H₂O 的合成、表征

将 10 mmol L¹ 置于 100 mL 二次蒸馏水中, 加热使其溶解, 此时加入 5 mmol Cu(ClO₄)₂ · 6H₂O, 搅拌, 过滤。滤液在室温下静置, 慢慢析出绿色晶体 C₃₀H₂₄Cl₂CuN₈O₈ · 4H₂O, (计算值, C 43.36, H 3.88, N 13.48; 实测值, C 43.64, H 3.41, N 13.02)。ν_{max}(KBr): 3200~3600(OH), 1281(C-N), 1643(C=N), 1634(HOH), 1612(HOH), 3059(Ar-H)。

1.3 CuL²ClO₄ 的合成、表征

将 0.319 g HL² · 3HCl (1 mmol) 悬浮于 100 mL 甲醇, 加 1 mL 3 mol · L⁻¹ NaOH 水溶液使其溶解, 将所得溶液加入 0.37 g Cu(ClO₄)₂ · 6H₂O (1 mmol) 的 20 mL 甲醇溶液, 回流两小时, 旋转蒸发至约 10 mL, 冷却, 析出绿色晶体, 过滤, 干燥, 得产物 0.34 g (产率 92%), C₁₁H₁₈ClCuN₃O₅, (计算值: C 35.59, H 4.89, N 11.32; 实测值: C 35.28, H 5.02, N 10.97)。ν_{max}(KBr): 3416.8(N-H), 3301.4(N-H), 3100.8(Ar-H), 1589.7, 1472.4, 1451.5, 1318.7, 1289.0, 1109.5(ClO₄⁻), 758.4, 730.9, 624.6(ClO₄⁻)。

1.4 pH 电位滴定

Cu(NO₃)₂ 浓度均为 1 mmol · L⁻¹, 对于 L¹, 与金属离子的摩尔比分别为 1:1 和 2:1。而对于配体 HL², 与金属离子的摩尔比为 1:1。体系中预加一定量的酸, 实验温度为 25 ± 0.1 °C, KNO₃ 维持溶液离子强度 I = 0.1。用 0.1 mol · L⁻¹ 的 NaOH 标准溶液在高纯氮气气氛中进行滴定。用 SCMAR 程序^[9, 10]处理数据。每组至少进行二次平行实验, 每次至少测量 40 个 pH 值的数据。

1.5 NA 酯水解动力学

反应过程中测量 NA 酯水解产物对 - 硝基苯酚在其特征吸收波长 400 nm 处的吸收, 实验条件为 25 ± 0.1 °C, I = 0.1 (KNO₃), pH 值用 50 mmol · L⁻¹ 缓冲溶液控制 (Tris 5~7, HEPES 7~8, MES 8~9)。对 - 硝基苯酚乙酸酯 (简称 NA 酯) 和配合物浓度均为 0.5, 1.0, 1.5 和 2.0 mmol · L⁻¹。最终混合溶液中含 10% CH₃CN (V/V), 反应用缓冲溶液作参比, 实验数据处理同前^[9, 10]。

2 结果和讨论

2.1 配体的质子化过程

配体的结构见图 1。图 2a 和图 3c 分别为配体 L¹ 和 HL² 的滴定曲线。横坐标 α(NaOH) 表示所加 NaOH 与配体摩尔数之比, α < 0 表示体系中有未被中和的预加酸存在。在实验 pH 范围内, L¹ 只有氨基氮原子的一级质子化过程。对于 HL², 配体分子有一个可离解的酚羟

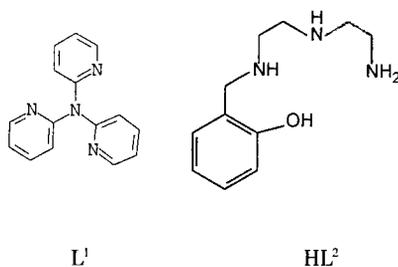
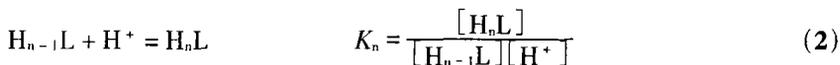
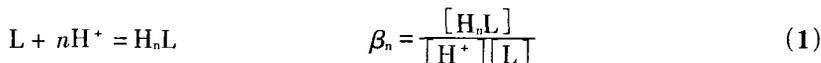


图 1 配体的结构

Fig. 1 Structures of the ligands

基,因此可表示为 HL 的形式,其共轭碱 L⁻有对应于酚氧负离子和三个氨基的四级质子化过程。配位反应方程式和平衡常数的表示方法见式 (1) 和式 (2)。

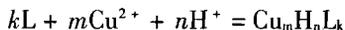


对于 L⁻, lgβ₁ = 7.28(5), 对于 HL²⁻, lgβ₁, lgβ₂, lgβ₃ 和 lgβ₄ 分别为 10.59(2), 20.19(3), 28.32(5) 和 32.61(5)。lgK₁, lgK₂, lgK₃ 和 lgK₄ 分别为 10.59, 9.60, 8.13 和 4.29, 它们分别对应于酚羟基和三个质子化氨基的离解。

2.2 配体与 Cu(II)配位过程

L⁻一般以二齿的方式与 Cu(II)配位^[7],即以两个吡啶氮配位。它可以和 Cu(II)形成稳定 2:1 配合物,其 EPR 的有关参数^[13]指出,这个配合物中 Cu(II)离子是 4N 配位环境,为平面正方形构型。图 2b 为配体 L⁻生成 2:1 型 Cu(II)配合物滴定曲线。

在滴定度 a = 1 时配体的质子就已被滴定完毕,但是从图中可以看出,当滴定度 a = 2 时又有一个质子被滴定,该质子必然是来自配合物中配位水分子的解离。配位反应如下式所示:



平衡常数 β_{kmm} 中 k, m, n 分别为配合物中结合的配体、金属离子和氢离子的摩尔数, n > 0 表示配合物中配体还带有质子化基团, n < 0 则表示有溶剂水分子配位并离解质子。为方便起见,式中略去与配体有关的各形体的电荷。非线性拟合得到 lgβ₂₁₀ = 9.68(4), lgβ₂₁₋₁ = 2.14(8)。则配位水的离解常数 pKa = lgβ₂₁₀ - lgβ₂₁₋₁ = 7.54, 说明 H₂O 与 Cu(II)之间有较强的配位作用(图 4), H₂O 被活化而容易离解质子。文献^[13]EPR 结果表明 Cu(II)离子是 4N 配位环境,可能由于在该配合物形态中配位 H₂O 分子还未离解,配位作用很弱,在 EPR 图中未反映出来。而所得配合物有四个结晶水,根据以上结果,可以认为其余三个水分子与 Cu(II)没有配位作用。从 IR 可以看出,水的弯曲振动频率为 1634 和 1612 cm⁻¹,可分别归结于弱配位水和晶格水的振动^[14]。HL²⁻生成 Cu

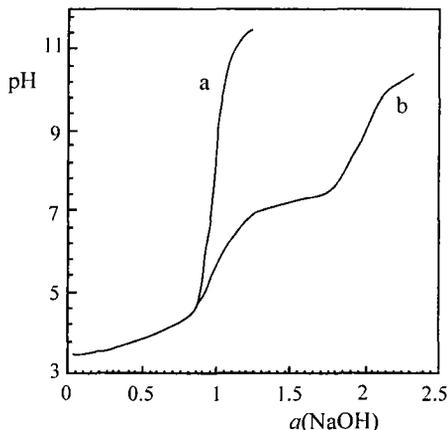


图2 配体 L⁻ 质子化及其与 Cu(II)配位滴定曲线
Fig. 2 Titration curve for L1 and its Cu(II) complex
a: 2mmol · L⁻¹ of L⁻
b: solution a + 1mmol · L⁻¹ of Cu(NO₃)₂

$$\beta_{kmm} = \frac{[Cu_mH_nL_k]}{[L]^k[Cu^{2+}]^m[H^+]^n} \quad (3)$$

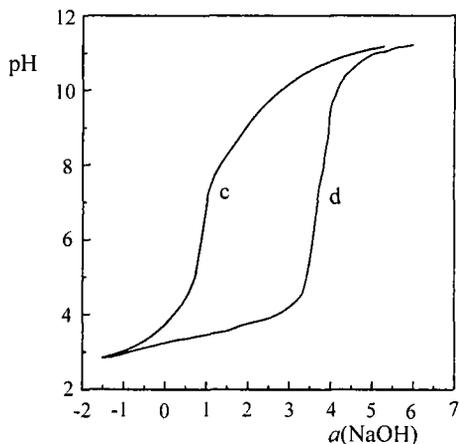


图3 配体 HL²⁻ 质子化及其与 Cu(II)配位滴定曲线
Fig. 3 Titration curve for HL²⁻ and its Cu(II) complex
c: 1mmol · L⁻¹ of HL²⁻
d: solution c + 1mmol · L⁻¹ of Cu(NO₃)₂

(II)配合物的滴定曲线见图 3d。从图中可以看出有四个质子被滴定,它们分别来自三个质子化的氨基和酚羟基。拟合得到 $\lg\beta_{111} = 25.42(3)$, $\lg\beta_{110} = 20.98(6)$ 。酚羟基配位使质子易于离解,离解常数 $pK_a = \lg\beta_{111} - \lg\beta_{110} = 4.44$, 比游离配体中酚羟基的 pK_a 值 10.59 小很多,说明其配位很强。可以认为正因为如此,使 Cu(II)本身的 Lewis 酸性大大减弱,不能再与水分子配位并使其离解。

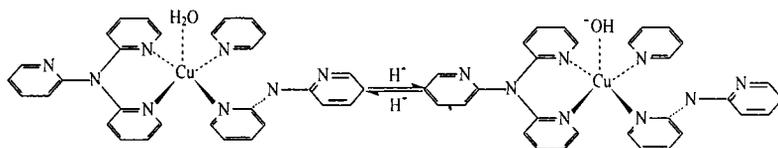
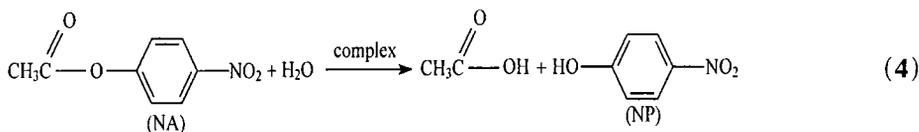


图 4 配合物 $[\text{Cu}(\text{II})(\text{L}^1)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}]^{2+}$ 和 $[\text{Cu}(\text{II})(\text{L}^1)_2 \cdot (\text{OH})]^+$

Fig. 4 Coordination compounds $[\text{Cu}(\text{II})(\text{L}^1)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}]^{2+}$ and $[\text{Cu}(\text{II})(\text{L}^1)_2 \cdot (\text{OH})]^+$

2.3 配合物对 NA 酯的催化水解行为

由于配合物 $[\text{Cu}(\text{L}^1)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}]^{2+}$ 中水分子的离解常数 $pK_a = 7.54$, 与碳酸酐水解酶(CA)中水的电离常数 ($pK_a = 7.5^{[15]}$) 十分接近, 该配合物对 NA 酯水解可能有很好的催化效果。NA 酯水解反应可用下式表示:



反应速率为:

$$\nu = -\frac{d[\text{NA}]}{dt} = \frac{d[\text{NP}]}{dt} = \frac{1}{\varepsilon} \cdot \frac{dA}{dt} \quad (5)$$

ν 包含各种催化因素对酯水解速率的贡献。通过初始斜率法^[9]以 A 对 t 作图, 所得直线斜率即为 dA/dt , 再根据 (5) 式可算得 ν 。在一定 pH 值下, 固定配合物总浓度 C , ν 与酯的浓度 $[\text{NA}]$ 呈线性关系, 或者固定 $[\text{NA}]$, ν 与 C 之间也具有线性关系, 因此 ν 可以表示为 (6) 式。

$$\nu = (k_{\text{NP}} \cdot C + \nu_{\text{OH}^-})[\text{NA}] \quad (6)$$

式中 C 也为 Cu(II)总浓度, ν_{OH^-} 为缓冲溶液催化解导致反应速率, k_{NP} 为配合物催化水解反应速率常数。在一定 pH 值下, 固定 $[\text{NA}]$, 以 ν 对 C 作图, 得到其斜率值算出 k_{NP} 值, 图 5 为 k_{NP} 与 pH 的关系曲线。

从图 5 可以看出, 配合物催化酯水解速率常数 k_{NP} 与 pH 之间是 Sigmoidal 型^[16] 曲线关系, 说明配合物催化酯水解动力学过程具有酸碱反应控制的特点。配合物催化速率常数在 $\text{pH} \approx 7.5$ 时出现转折点, 即配合物中配位水分子的解离常数 $pK_a \approx 7.5$, 这与配位热力学结果基本一致 ($pK_a = 7.54$), 说明配合物是以 $\text{Cu}(\text{II}) \cdots \text{OH}^-$ 为亲核试剂进攻底物而实现其催化作用。当 pH

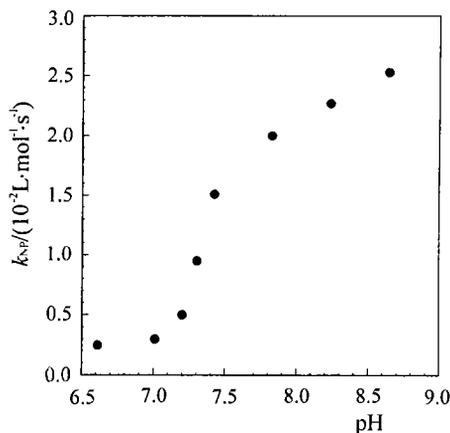


图 5 L^1 Cu(II) 配合物催化 NA 酯水解二级反应速率常数 $k_{\text{NP}} (\times 10^{-2} \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1})$ 随 pH 的变化

Fig. 5 Rate constants-pH profile for the second-order reaction of NA hydrolysis catalyzed by coordination compounds of L^1 at 25°C , and $I = 0.10$ (KNO_3)

达到9左右时,由于配位水分子几乎已全部离解成为亲核体 $\text{Cu}(\text{L}^1)_2 \cdots \text{OH}$,催化酯水解效果也达到最佳 (k_{NP} 为 $0.0253 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)。

但是配体 HL^2 的 Cu(II)配合物催化 NA 酯水解效果很差, k_{NP} 很小,实验得不到具体数值。这是由于酚羟基配位很强,生成的 $\text{Cu}(\text{II}) \cdots \text{OAr}$ 亲核能力较弱,不能作为有效的亲核试剂进攻底物,因而催化能力很差。

比较 L^1 和 HL^2 的 Cu(II)配合物,可以看出,后者由于有酚氧负离子较强的配位作用,使 Cu(II) Lewis 酸性的减弱更明显,Cu(II)在与配体四个原子配位之后不能在第五配位点与水配位并使其质子离解,所以催化效果很差。事实上,很多配位较强的阴离子都是碳酸酐酶(CA)的抑制剂^[17],可能正是出于这个原因。

L^1 的 Cu(II)配合物也比我们以前报道过的酚胺型配体的 Cu(II)配合物^[10]催化能力强,而后者的亲核试剂则是配位酚氧负离子 $\text{Cu}(\text{II}) \cdots \text{OAr}$ 。这也从一个角度说明配位羟基 $\text{M}(\text{II}) \cdots \text{OH}$ 是比 $\text{Cu}(\text{II}) \cdots \text{OAr}$ 更好的亲核试剂。

我们曾对三吡啶胺 Zn(II)配合物^[8]催化 NA 酯水解进行过研究,得到配合物中配位水分子的离解常数 $\text{p}K_{\text{a}} = 7.8$,配合物对 NA 酯水解的最大催化速率常数 k_{NP} 为 $0.033 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ 。虽然配位水的 $\text{p}K_{\text{a}}$ 值比在三吡啶胺 Cu(II)配合物中大,但其催化效果却更好。这也从而反映了金属离子性质的差异以及配合物结构对其催化性能的影响。金属水解酶中锌酶占绝大多数并非巧合,而是反映了 Zn(II)具有一些特殊性质,这也正是从化学角度开展模拟酶研究的原因之一。

本文的结果对认识金属离子在金属酶中的作用机理有一定意义。

参 考 文 献

- [1] Chapman W. H., Breslow R. *J. Am. Chem. Soc.*, **1995**, **117**, 5462.
- [2] Shoner S. C., Humphreys K. J., Branhart D., Kovacs J. A. *Inorg. Chem.*, **1995**, **34**, 5933.
- [3] Darensbourg D. J., Jones M. L., Renbenspies J. H. *Inorg. Chem.*, **1996**, **35**, 4406.
- [4] Morrow J., Trogler W. C. *Inorg. Chem.*, **1988**, **27**, 3387.
- [5] Chin J., Jubian V. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1989**, 839.
- [6] Wall M., Resemary C. H., Chin J. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1993**, **32**, 1633.
- [7] Deal K. A., Burstyn J. N. *Inorg. Chem.*, **1996**, **35**, 2792.
- [8] KOU Fu-Ping(寇福平), LIN Hua-Kuan(林华宽), ZHU Shou-Rong(朱守荣), CHEN Rong-Ti(陈荣悌) *Wuli Huaxue Xuebao(Acta Physico-chimica Sinica)*, **1996**, **12**, 804.
- [9] XIE Yong-Shu(解永树), KOU Fu-Ping(寇福平), LIN Rui-Sen(林瑞森), ZONG Han-Xing(宗汉兴) *Wuji Huaxue Xuebao(Chinese J. Inorg. Chemistry)*, **1999**, **15**(1), 68.
- [10] NIE Li(聂丽), KOU Fu-Ping(寇福平), XIE Yong-Shu(解永树), LIN Rui-Sen(林瑞森), ZONG Han-Xing(宗汉兴) *Wuji Huaxue Xuebao(Chinese J. Inorg. Chemistry)*, **1999**, **15**(2), 165.
- [11] Wihaut J. P., Bastide G. L. C. *Rec. Trav. Chim.*, **1933**, **52**, 493.
- [12] XIE Yong-Shu(解永树), LIN Rui-Sen(林瑞森), LIU Qing-Liang(刘清亮) *Wuji Huaxue Xuebao(Chinese J. Inorg. Chemistry)*, submitted.
- [13] (a) Peisach J., Blumberg W. E. *Arch. Biochem. Biophys.*, **1974**, **165**, 691.
(b) Linss M., Weser U. *Inorg. Chim. Acta*, **1986**, **125**, 117.
- [14] Labadi I., Bernat G., Parkanyi L., Kenessey G., Liptay G. *Polyhedron*, **1992**, **11**, 2975.

- [15] Pocher Y., Sarkanen S. *Adv. Enzymol.*, **1987**, **47**, 149.
[16] Woolley P. *Nature*, **1975**, **25**, 677.
[17] Koike T., Kimura E., Nakamura I., Hashimoto Y., Shiro M. *J. Am. Chem.*, **1992**, **114**, 7338.

Coordination of Cu (II) with Tripyridylamine and a Tetradentate Ligand and Hydrolysis of 4-Nitrophenyl Acetate Catalyzed by these Complexes

XIE Yong-Shu¹ KOU Fu-Ping² LIN Rui-Sen² LIU Qing-Liang¹

(¹ Department of Chemistry, University of Science and Technology of China, Hefei 230026)

(² Department of Chemistry, Zhejiang University, Hangzhou 310027)

The complexation processes of Cu (II) with tripyridylamine(L¹) and N-(2'-hydroxybenzyl)-diethylenetriamine (HL²) have been studied by pH potentiometric titration at 25 ± 0.1°C, I = 0.1 (KNO₃). The results indicate that, L¹ is a bidentate ligand and only forms stable Cu (II) complex with a ratio L: Cu (II) = 2: 1. In the complex Cu (II) is able to combine a H₂O molecule with a pK_a value of 7.54, which implies that the H₂O bound to Cu (II) can readily deprotonate in the physiological pH range. Three nitrogen atoms of amino groups and one phenolic hydroxyl coordinate to Cu (II) for HL². The coordinated hydroxyl can dissociate with a pK_a value of 4.44. The kinetics of p-nitrophenyl acetate (NA) hydrolysis catalyzed by the complexes was determined spectrophotometrically at 25 ± 0.1°C and I = 0.1 (KNO₃) in 10% (V/V) CH₃CN at pH 5.5 ~ 9.0 (50mmol · L⁻¹ buffers), and the second-rate constants *k*_{NP} for NA hydrolysis were obtained. The plot of *k*_{NP} of Cu (II) (L¹)₂ vs pH has the characteristics of a Sigmoidal curve, with the maximum *k*_{NP} value of 2.53 × 10⁻² L · mol⁻¹ · s⁻¹. The results suggest that the Cu (II)-bound OH⁻ acts as a good nucleophile and has good catalysis on NA ester hydrolysis.

Keywords: metallohydrolases nucleophiles catalytic hydrolysis