

链酚胺型 N_3O 配体合成及其 $Zn(II)$ 配合物催化 对 - 硝基苯酚乙酸酯水解研究

解永树^{*,1} 林瑞森² 刘清亮¹

(中国科技大学化学系, 合肥 230026)

(² 浙江大学化学系, 杭州 310027)

合成了链酚胺型 N_3O 配体 N -(2-羟基苄基)-二乙烯三胺(HL), 用元素分析, IR 和 1H NMR 等手段进行了表征。用 pH 电位滴定法, 在 $25 \pm 0.1^\circ C$, $I = 0.10 (KNO_3)$ 条件下, 研究了该配体质子化及其与 $Zn(II)$ 离子配位热力学。在 $25 \pm 0.1^\circ C$, $I = 0.10 (KNO_3)$, $pH = 7 \sim 9 (50 mmol \cdot L^{-1}$ 缓冲溶液) 范围内, 通过分光光度法测定了配合物催化对 - 硝基苯酚乙酸酯(NA)水解动力学, 得到了 NA 催化水解二级反应速率常数 k_c 。结果表明 $Zn(II)$ 离子与配体的氨基和酚羟基配位之后, 还与一个水分子配位。配位酚羟基和水分子的离解常数 pK_a 值分别为 5.22 和 9.47。在中性 pH 值可以产生亲核试剂 $Zn(II) \cdots ^-OH$, 对 NA 水解有较好的催化效果, $pH = 9.0$ 时, $k_c = 3.2 \times 10^{-2} mol^{-1} \cdot L^{-1} \cdot s^{-1}$ 。

关键词: 酚胺型配体 平衡常数 催化动力学 $Zn(II)$ 配合物
分类号: O614.12

金属水解酶在生物体系中有重要作用。其中碳酸酐酶(CA)活性中心为 $Zn(II)$ 四配位结构, 配位水离解生成的 $Zn(II) \cdots ^-OH$ 在催化水解反应时可以作为亲核试剂进攻底物^[1]。各类配合物被用来模拟这种作用^[2], 目前以含氮配体为主, 而对氮氧杂配体尤其是对链型氮氧杂配体的报道很少^[3]。研究表明 $Zn(II)$ 配合物中 $Zn(II) \cdots ^-OAr$ 同样是有有效的亲核试剂^[4], 我们曾研究过含酚羟基配体 N, N' -二-(羟基苄基)-1, 3-丙二胺(BPDA) $Zn(II)$ 配合物^[5] 催化对 - 硝基苯酚乙酸酯水解行为, 发现该配合物确实有较好的催化作用。本文合成了 N -(2-羟基苄基)-二乙烯三胺, 该配体与 $Zn(II)$ 配位后也能生成 $Zn(II) \cdots ^-OAr$, 与 BPDA 相比, 由于少一个苯环, 空间阻力较小, 而且少一个负离子配位, $Zn(II)$ 可能在与配体的四个配位原子配位之后, 再与一个溶剂水分子配位, 并使之离解生成 $Zn(II) \cdots ^-OH$ 。本文用 pH 电位滴定法测定了该配体配位热力学行为, 考察是否可以在中性 pH 生成 $Zn(II) \cdots ^-OAr$ 和 $Zn(II) \cdots ^-OH$ 。在此基础上, 用紫外 - 可见分光光度法测定了配合物催化 NA 酯水解动力学行为, 并与其 $Cu(II)$ 配合物以及金属水解酶进行比较, 探讨金属水解酶活性中心金属离子的作用。

1 实 验

1.1 试剂和仪器

$Zn(NO_3)_2$ (优级纯) 溶液浓度用容量法标定。 KNO_3 为分析纯, 经两次重结晶提纯。 $NaBH_4$, $NaOH$, Na_2SO_4 , Na_2CO_3 , $CHCl_3$, 无水乙醇, 盐酸等为分析纯, 其中无水乙醇用钠和邻苯二甲酸二

收稿日期: 1999-11-11。收修改稿日期: 2000-01-04。

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, 29 岁, 博士后, 研究方向: 生物无机化学。

乙酯进一步除水。水杨醛、二乙烯三胺等为分析纯,使用前经减压蒸馏提纯。称量法配制溶液,实验使用二次蒸馏水。Perkin-Elmer 240C 元素分析仪, Nicolet 170SXFT 红外光谱仪 (KBr 压片), ^1H NMR 谱在 Bruker AM-200 核磁共振仪上记录。Beckman $\phi 71$ 型 pH 计,配有 Beckman 39841 型复合电极, Shimadzu UV-260 型分光光度计。

1.2 配体合成

在 100mL 绝对乙醇中加入二乙烯三胺 0.2mol,维持搅拌下滴加含 0.05mol 水杨醛的乙醇溶液 50mL,适当浓缩后分批加入 0.2mol NaBH_4 的乙醇溶液 100mL,加完后维持反应 1h。用 $6\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸 (5mL) 破坏过量的 NaBH_4 ,再以 $0.1\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}\text{NaOH}$ 调节溶液 $\text{pH} \sim 8$,将溶液真空浓缩近干后,残余物用 50mL 水溶解,用 $5 \times 50\text{mL}$ CHCl_3 萃取,合并萃取液并用饱和 Na_2CO_3 溶液洗涤三次, Na_2SO_4 干燥过夜,抽滤,浓缩得 $\text{HL} \cdot 3\text{HCl} \cdot \text{C}_{11}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O} \cdot 3\text{HCl}$ (计算值: C, 41.78; H, 6.92; N, 13.26。实测值: C, 41.43; H, 6.96; N, 13.19)。IR ($\nu_{\max}$, cm^{-1} , KBr 压片): 3426(br, ν (O-H)), 2948m(ν_{as} (CH_2)), 2755m(ν_{as} (NH_2^+)), 2680m(ν_{s} (NH_2^+)), 1606m(Ar, ν (C=C)), 1493m(Ar, ν (C=C)), 1459m(Ar, δ (C=C)), 1214(ν (C-O)), 1165(ν (C-N)), 755s(Ar, δ (C-H))。 ^1H NMR(ppm, δ_{H} (D_2O), TMS) δ : 6.92 ~ 7.29(4H, d, Ar-H), 4.24(2H, s, Ar- CH_2), 3.35 ~ 3.49(8H, m, 4-NH CH_2)。

1.3 pH 滴定

测定质子化常数时,配体浓度为 $1 \times 10^{-3}\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$,研究 $\text{Zn}(\text{II})$ 离子与配体的配位性质时,还加入与配体等摩尔的 $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$,实验温度为 $25 \pm 0.1^\circ\text{C}$, KNO_3 控制离子强度为 0.10。加入适量酸,用 $0.1314\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}\text{NaOH}$ 标准溶液在高纯氮气氛中滴定,每组实验至少平行两次,每次至少在 $\text{pH} = 3 \sim 11$ 范围内测 40 个点,用 SCMAR 程序^[6]处理数据,通过非线性拟合得到结果。

1.4 对-硝基苯酚乙酸酯水解动力学

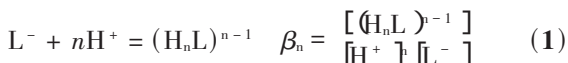
反应中跟踪 NA 酯水解产物对-硝基苯酚 (特征吸收波长 400nm),实验条件为 $25 \pm 0.1^\circ\text{C}$, $I = 0.10(\text{KNO}_3)$ 。pH 值用 $50\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 缓冲溶液 (HEPES 7 ~ 8, MES 8 ~ 9) 控制。NA 酯和配合物浓度均为 0.5, 1.0, 1.5 和 $2.0\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。最终混合溶液中含 10% CH_3CN (V/V),以缓冲溶液作参比,数据处理同前^[5,7]。

2 结果与讨论

2.1 配体的质子化

配体含有一个酚羟基,可表示为 HL 的形式。 L^- 有对应于三个氨基和一个酚氧负离子的四级质子化过程,滴定曲线见图 1 曲线 a。

图中横坐标 $a(\text{NaOH})$ 表示所加 NaOH 与配体摩尔比, $a < 0$ 表示体系中尚有未被中和的预加酸存在。质子化反应方程式如下:



式中 β_n 表示积累质子化常数。非线性拟合得到 $\lg \beta_1 \sim \lg \beta_4$ 分别为 10.59(2), 20.19(3), 28.32(5), 32.61(5)。

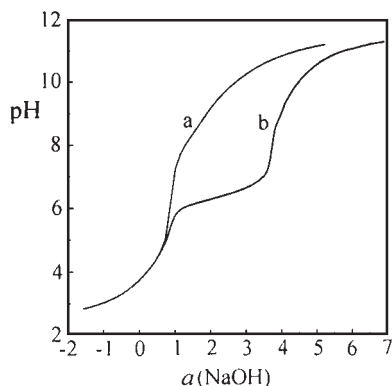
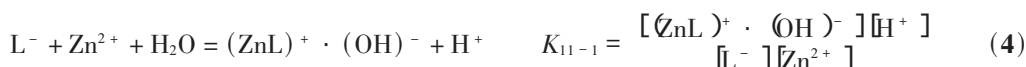
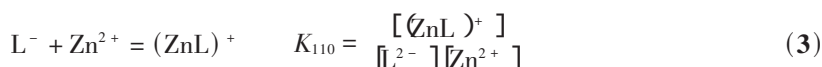
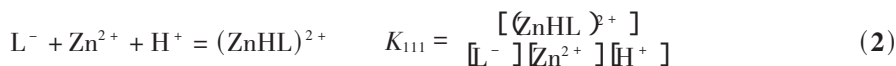


图 1 配体 HL 质子化及其与 $\text{Zn}(\text{II})$ 的配位滴定曲线
Fig. 1 Titration curve for HL and its $\text{Zn}(\text{II})$ complex
a: $1\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ of HL
b: solution a + $1\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ of $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$

2.2 配体与锌(II)配位

配位滴定见图 1 曲线 b。从图中可以看出,在 $\text{pH} \sim 5$ 时开始生成配合物并释放质子,溶液 pH 上升缓慢,至滴定度为 4,质子化氨基和酚羟基都已配位并离解质子。在滴定度 4~5 又有一个 pH 突跃,并且 $a=4.5$ 时,溶液 pH 只有 9.5 左右,说明仍有一个质子被滴定,即共有五个质子被滴定,第五个质子一定为配位水所离解。则溶液中有下列平衡:



式中平衡常数表示为 K_{mhl} 的形式, 其中 m, l, h 分别表示配合物中金属离子、配体和 H^+ 的摩尔数。 $n < 0$ 则表示溶剂水分子配位并解离质子。通过非线性拟合, 算得 $\lg K_{111}, \lg K_{110}$ 和 $\lg K_{11-1}$, 则 $\lg K_{111} - \lg K_{110}, \lg K_{110} - \lg K_{11-1}$ 分别为酚羟基和水的解离常数 pK_{a1} 和 pK_{a2} 。结果见表 1。

表 1 配体与 $Zn(II)$ 配位平衡常数和质子离解常数

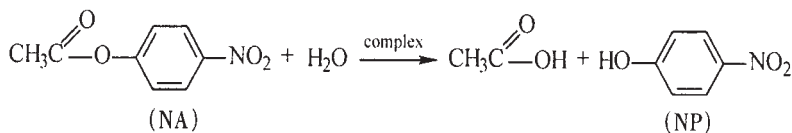
Table 1 Coordination Equilibria Constants of Zn (II) with the Ligand and Dissociation Constants of the Protons ($25 \times 0.1^\circ\text{C}$, $I = 0.10$ (KNO_3))

$\log K_{111}$	$\log K_{110}$	$\log K_{11-1}$	pK_{a1}	pK_{a2}
17.67(5)	12.45(2)	2.98(3)	5.22	9.47

而配体在与 Cu(II) 配位时^[8], $\lg K_{111} = 25.42$, $\lg K_{110} = 20.98$, 说明氨基和酚羟基与 Cu(II) 配位比与 Zn(II) 配位强, 但是并没有水分子离解, 这反映出 Cu(II) 和 Zn(II) 配位性质的差别。

2.3 Zn(II)配合物催化 NA 酯水解

NA 酯水解反应式为：



反应速率为：

$$v = - \frac{d[\text{NA}]}{dt} = \frac{d[\text{NP}]}{dt} = \frac{1}{\varepsilon} \cdot \frac{dA}{dt} \quad (6)$$

式中 A 为吸光度, ε 为摩尔吸收系数, v 包含了各种催化因素对酯水解速率的贡献, 通过初始斜率法^[7]以 A 对 t 作图, 所得直线斜率即为 dA/dt , 再根据事先由实验求得的 v 值和 (6) 式可算得 v 。在一定 pH 值下, 固定配合物总浓度 C , 以 v 对 $[NA]$ 作图, 或者固定 $[NA]$, 以 v 对 $[C]$ 作图 (以 pH = 8.23 为例) 结果见图 2。

从图 2a 和 b 可以看出,二者均为线性关系,因此 ν 又可表示为 σ 的式。

$$v = (k_c \cdot [C] + k_{OH^-} [OH^-] + \dots) [NA] \quad (7)$$

式中 $[C]$ 为 $Zn(II)$ 总浓度, k_{OH^-} 为缓冲溶液催化水解反应速率常数, k_c 为配合物催化水解反应速率常数。在一定 pH 值下,固定 $[NA]$,以 v 对 $[C]$ 作图,通过其斜率值可求得 k_c 值, k_c 随 pH 的变化见图3。根据配位平衡常数计算出的各配位形体在不同 pH 占 $Zn(II)$ 总浓度的比例(C_r)见图4。

从 3 和图 4 可以看出, $(ZnL)^+$ 在 pH 5.5 左右即开始生成, 其浓度在 pH ~ 7.5 达到最大, 随

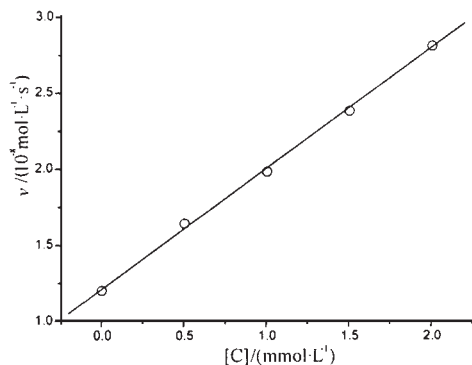
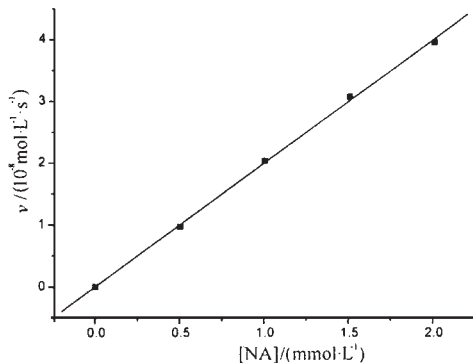
(a) v -[C] ([NA] = 1.0 mmol · L⁻¹)(b) v -[NA] ([C] = 1.0 mmol · L⁻¹)

图 2 配合物催化 NA 酯水解反应速率随 [C] 和 [NA] 的变化

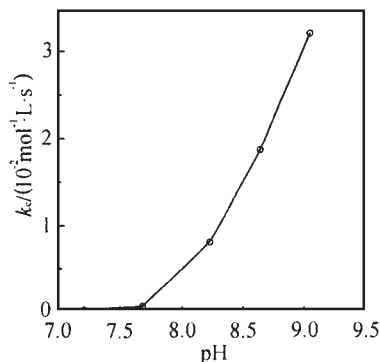
Fig. 2 Complexes catalyzed Hydrolysis reaction rate of NA vs [C] and [NA] at 25°C, $I = 0.10$ and pH = 8.23

图 3 配合物催化 NA 酯水解二级反应速率常数与 pH 的关系

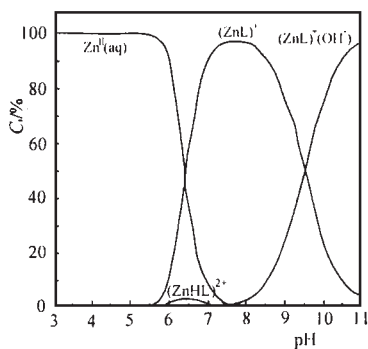
Fig. 3 Rate-pH plot for the second-order rate constants of NA hydrolysis catalyzed by the complexes at 25°C, and $I = 0.10$ (KNO₃)

图 4 各配合物形体在不同 pH 分布曲线

Fig. 4 Distribution curves for the complexes as a function of pH at 25°C, and $I = 0.10$ (KNO₃)

着 pH 的进一步增大, $(ZnL)^+ (OH)^-$ 开始生成, 配合物催化 NA 酯水解反应速率常数 k_c 与 $(ZnL)^+ (OH)^-$ 浓度之间有很好的对应关系, 在 pH 7.0 ~ 9.0 范围内随 pH 增大而很快增大, 说明 k_c 主要是由 $(ZnL)^+ (OH)^-$ 贡献的, 虽然 $(ZnL)^+$ 的酚羟基可以配位并生成 $Zn(II) \cdots OAr$, 但是由于其配位作用太强, pK_a 值仅为 5.22, 生成的 $Zn(II) \cdots OAr$ 亲核性较小, 因此催化能力较差。配位形体 $(ZnL)^+ (OH)^-$ 中配位水分子离解生成 $Zn(II) \cdots OH$, 并以此作为亲核试剂进攻底物, 达到了较好的催化效果 (pH = 9.0 时, $k_c = 3.2 \times 10^{-2} \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{s}^{-1}$), 与大环配体 1, 5, 9-三氮杂环十二烷 $Zn(II)$ 配合物^[9] 催化 NA 酯水解效果相当 (pH = 9.0 时, $k = 3.6 \times 10^{-2} \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{s}^{-1}$)。而配体的 Cu(II) 配合物^[8] 对 NA 酯水解基本上没有催化效果。

从上述结果可以看出, 配体与 Cu(II) 配位时, 只能生成四配位配合物, 而与 Zn(II) 配位时, 则有水分子在第五配位点配位并离解生成 $Zn(II) \cdots OH$, 说明与该配体配位时 Zn(II) 比 Cu(II) 更易于生成五配位配合物。事实上, 锌酶在催化水解反应过程中形成的五配位反应中间体的重要性已引起重视^[10]。虽然很多 Cu(II) 配合物比相应的 Zn(II) 配合物催化底物水解性能好^[11], 但是天然金属水解酶的活性中心金属离子一般都是 Zn(II), 而不是 Cu(II)。本文的研究有助于进一步

理解金属水解酶的催化性质和金属离子的作用。

参 考 文 献

- [1] (a) Botre F. *Carbonic Anhydrase*, ed. By G. Gros, B. T. Storey, VCH: New York, **1990**.
(b) Pocker Y., Stone J. T. *Biochem.*, **1967**, **6**, 668.
- [2] (a) Woolley P. *Nature*, **1975**, **258**, 677.
(b) Chapman W. H., Breslow R. *J. Am. Chem. Soc.*, **1995**, **117**, 5462.
- [3] (a) Greener B., Moore M. H., Walton P. H. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1996**, 27.
(b) Koike T., Inoue M., Kimura E., Shiro M. J. *J. Am. Chem. Soc.*, **1996**, **118**, 3091.
(c) Malik M. A., Motevalli M., O'Brien P. *Inorg. Chem.*, **1995**, **34**, 6223.
(d) Ruf M., Vahrenkamp H. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, **1995**, 1915.
- [4] Zhu S., Chen W., Lin H., Yin X., Kou F., Lin M., Chen Y. *Polyhedron*, **1997**, **16**, 3285.
- [5] XIE Yong-Shu(解永树), KOU Fu-Ping(寇福平), Wang Ping-Shan(王平山), LIN Rui-Sen(林瑞森), ZONG Han-Xing(宗汉兴) *Huaxue Xuebao(Acta Chimica Sinica)*, **1998**, **56**, 1192.
- [6] (a) SUN Hong-Wei(孙宏伟) *Ph. D. Thesis, Nankai Univ.* (南开大学博士论文), Tianjin, **1997**.
(b) XIE Yong-Shu(解永树), KOU Fu-Ping(寇福平), LIN Rui-Sen(林瑞森), ZONG Han-Xing(宗汉兴) *Gaodeng Xuexiao Huaxue Xuebao(Chem. J. Chinese Universities)*, **1998**, **19**, 676.
- [7] (a) 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.
(b) 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.
- [8] XIE Yong-Shu(解永树), LIN Rui-Sen(林瑞森), KOU Fu-Ping(寇福平), LIU Qing-Liang(刘清亮) *Wuji Huaxue Xuebao(Chinese J. Inorg. Chemistry)*, **2000**, **16**(3), 461.
- [9] Kimura E., Shiota T., Koike T., Shiro M., Kodama M. *J. Am. Chem. Soc.*, **1990**, **112**, 5805.
- [10] Rodriguez Barbarin C. O., Bailey N. A., Fenton D. E., He Q. *Inorg. Chim. Acta*, **1994**, **219**, 205.
- [11] Chin J., Jubian V. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1989**, 839.

Hydrolysis of *p*-Nitrophenyl Acetate Promoted by Zn (II) Complexes of a Linear N₃O Amine Phenol Ligand

XIE Yong-Shu¹ 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)

Tetradentate linear ligand N-(2-hydroxybenzyl)-diethylenetriamine (HL) was synthesized and characterized by elemental analysis, IR and ¹H NMR. By pH potentiometric titration at 25 ± 0.1°C and *I* = 0.1 (KNO₃), protonation constants of the ligand and equilibria constants of Zn (II) complexation with the ligand have been determined. Modes of coordination were discussed, and the dissociation constant for the phenoxyl and water in the complexes were obtained. 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 7.0 ~ 9.0 (50 mmol · L⁻¹ buffers), and the second-rate constants *k_c* for NA hydrolysis were obtained. The experimental results indicate that the ligand coordinate with Zn (II) yielding five-coordinated complex with three amino groups, one phenoxyl, and an additional water coordinated. And the p*K_a* values for the phenoxyl and the water are 5.22 and 9.47 respectively. Therefore the complexes can yield nucleophile Zn (II) ...⁻OH, and this have good catalytic effect on NA ester hydrolysis with a *k_c* value of 3.2 × 10⁻² mol · L⁻¹ · s⁻¹ at pH 9.0.

Keywords: amine phenol ligands equilibria constants catalytic kinetics
Zn (II) complexes