

双环八氮杂大环双核铜配合物催化羧酸酯水解研究

寇兴明* 胡 艳 田玉华 孟祥光 胡常伟 曾宪诚*

(四川大学化学学院, 四川省绿色化学与技术重点实验室, 成都 610064)

摘要: 合成了一类新的双环二氧大环四胺双核铜配合物, 其组成经元素分析、热重/差热分析、摩尔比法及等物质的量连续变化法所确证。在水溶液中, 详细研究了其催化 2-吡啶甲酸对硝基苯酚酯(PNPP)水解的动力学和机理, 并与相应的单核铜配合物进行了对比。结果表明, 此双核铜配合物能有效地催化 PNPP 的水解; 两个金属中心之间具有明显的协同作用, 较好的模拟了某些天然水解金属酶的“双功能催化机理”。

关键词: 大环双核铜(II)配合物; 羧酸酯; 模拟酶; 水解; 催化动力学

中图分类号: O614.121; O643.12 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-4861(2005)01-0051-08

Catalytic Hydrolysis of *p*-Nitrophenyl Picolinate (PNPP) by a Dinuclear Copper(II) Complex of an Octaaza Di-macrocyclic Ligand

KOU Xing-Ming* HU Yan TIAN Yu-Hua MENG Xiang-Guang HU Chang-Wei ZENG Xian-Cheng*

(Sichuan Key Laboratory of Green Chemistry and Technology, Faculty of Chemistry, Sichuan University, Chengdu 610064)

Abstract: A new dinuclear copper(II) complex of an octaaza di-macrocyclic ligand (bisdioxocyclam) has been synthesized and characterized by elementary analysis, TG/DTA, molar ratio and Job method. Its ability to catalyze the hydrolysis of PNPP was studied and the kinetics and mechanism for the hydrolysis of PNPP promoted by the dinuclear copper(II) complex of bisdioxocyclam was discussed in detail. For comparison, the catalytic activity of the corresponding mononuclear copper(II) complex toward the hydrolysis of PNPP was also investigated. The results indicate that the macrocyclic dinuclear copper(II) complex of bisdioxocyclam can effectively catalyzed the hydrolysis of PNPP. Apparent cooperativity between two metal ions of the macrocyclic dinuclear copper(II) complex was observed, which is similar to the “bifunctional mechanism” operated by some natural hydrolytic metalloenzyme.

Key words: macrocyclic dinuclear copper(II) complex; carboxylic esters; enzyme mimicking; hydrolysis; catalytic kinetics

0 引 言

自然界中, 水解酶是生物体内一类十分重要的酶, 它们参与了生物体内的许多生物化学过程。如碳酸酐酶能促进 CO_2 的水化过程; 肽酶和酯酶可催化羧基化合物的水解; 磷酸酯酶能催化磷酸酯的水解。许多水解酶的活性部位都包含两个或两个以上的金

属中心^[1]。目前, 人们对水解酶中金属离子的基本功能(如底物识别与活化、亲核剂活化、离去基团的稳定等)已有相当的了解^[1,2], 但其水解机理的细节, 尤其是包含有双金属或多金属中心酶的水解机理细节的认识还远远不够。因此, 这类酶中金属离子在水解过程中所起的作用及其特征, 已成为近年来模拟酶研究的热点^[3]。

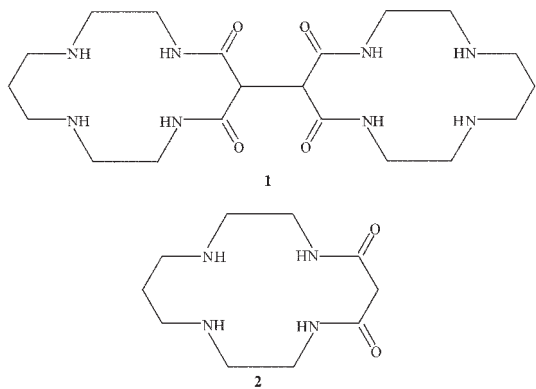
收稿日期: 2004-05-24。收修改稿日期: 2004-08-02。

国家自然科学基金资助项目(No.20173038, No.20107004)。

*通讯联系人。E-mail: kouxm@scu.edu.cn; kouxm@tom.com; zengxc@scu.edu.cn

第一作者: 寇兴明, 男, 40 岁, 博士, 副教授; 研究方向: 人工酶催化。

由于这类酶的活性部位具有双金属或多金属中心的结构特征,显而易见,在模拟研究中,双核或多核金属配合物自然成为首选的模型物。因此,我们^[4]及其他研究小组^[5,6]设计了一系列双核或三核的金属配合物,用于羧酸酯和磷酸酯水解的模拟体系中,获得了许多有关水解酶中双金属中心作用机制的有用信息。在模拟研究中,大环配体因其结构的特殊性和优异的配位性能而倍受酶模拟研究者青睐。迄今已研究过的模拟体系中,使用大环配体所制备的双核或多核配合物作模型物的体系占了相当大的比例。而二氧大环四胺作为一类独特的大环配体,可以像卟啉和咕啉一样与金属离子结合,并使之处于环穴之中而形成稳定的配合物。而且,由于其兼有大环多胺和寡肽的双重特征,因而呈现出许多有趣的性质和重要的功能。比如,能稳定某些过渡金属离子的高价态^[7]而用作有效的氧化剂和仿生氧化的催化剂^[8]。但到目前为止,鲜见将单核的二氧大环四胺金属配合物用于水解酶的模拟^[9],而更未见双核的双环二氧大环四胺金属配合物被用于催化酯的水解反应。有鉴于此,本文合成了一种双环二氧大环四胺配体:6,6'-联(1,4,7,11-四氮杂环十四烷-5,7-二酮)(**1**)及其双核铜配合物 $\text{Cu}_2 \cdot \mathbf{1}$, 研究了该铜配合物对对硝基苯基 2-吡啶甲酸酯(PNPP)水解的催化作用,并与相应的单环配体:1,4,7,11-四氮杂环十四烷-5,7-二酮(**2**)生成的单核铜配合物 $\text{Cu} \cdot \mathbf{2}$ 进行了对比。



Scheme 1

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

意大利 Carlo Erba 公司 MOD 1106 元素分析仪, Perkin Elmer 16PC FTIR 红外光谱仪(KBr 压片), Bruker AV-300 NMR 波谱仪, 日本精工 Seiko Exstar 6000 热分析仪, TU-1901 紫外可见分光光度计(北京

普析通用仪器有限责任公司, 配备循环水恒温控制单元), pHs-3D 数字酸度计(成都仪器厂)。

$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 、 HNO_3 、 NaNO_3 、三羟甲基氨基甲烷(Tris)、金属钠、固体碘(升华法纯制)、 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 、无水 Na_2SO_4 皆为分析纯试剂。丙二酸二乙酯(分析纯, 使用前减压重蒸), 绝对乙醇(将无水乙醇用金属钠处理), 无水乙醚, 1,4,8,11-四氮杂十一烷(Aldrich 公司产品)。对硝基苯基 α -吡啶甲酸酯(PNPP)按文献方法^[10]合成。实验用水为重蒸去离子水。

1.2 配体的合成

参考文献^[7,11]按以下方法合成。

1.2.1 中间体 **3** 的合成

将 4.6 g(0.20 mol)金属钠溶于 500 mL 绝对乙醇中, 在搅拌下, 氮气氛围中, 慢慢滴加 31 mL(约 0.20 mol)的丙二酸二乙酯。滴加完毕后, 再继续搅拌 20 min。将 25.4 g(约 0.10 mol)碘溶于 150 mL 无水乙醚后, 在剧烈搅拌下, 慢慢加入上述溶液中。加完后, 继续搅拌 30 min, 得浅黄色溶液。然后, 将溶液浓缩至约 150 mL。冷却后, 加入 100 mL 水, 用 100 mL 乙醚萃取 3 次。分出乙醚层, 用 100 mL 0.1 mol·L⁻¹ 的 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 溶液洗涤 2 次后, 用无水 Na_2SO_4 干燥过夜。蒸去乙醚后, 得白色针状结晶 **3**。用冷乙醇洗涤 2 次后, 用硅胶真空干燥, 收率 50%。m.p. 75~76 °C(文献值^[7]: 76 °C)。IR(KBr, cm⁻¹): 2987, 1737, 1472, 1369, 1309, 1283, 1191, 1146, 1027, 951, 864, 824, 700, 583, 533。

1.2.2 双环二氧大环四胺配体 **1** 的合成

将 0.025 mol 的中间体 **3** 溶于 500 mL 绝对乙醇, 在氮气保护下, 向其中滴入 0.05 mol 的 1,4,18,11-四氮杂十一烷, 然后回流。数小时后, 白色沉淀 **1** 开始生成, 继续回流 3 d。过滤, 用乙醇洗涤 3 次, 用硅胶真空干燥, 得白色微晶沉淀。将滤液浓缩一半后, 可进一步回收产品。但产品不纯, 含有未反应的中间体 **3**, 可用四氢呋喃热萃取提纯, 收率 25%。¹H NMR(D_2O , 300 MHz) δ : 1.63~1.66(m, 4H), 2.60~2.64(t, 8H), 2.69~2.76(m, 8H), 2.99~3.04(m, 4H), 3.61~3.66(m, 4H), 4.03(s, 2H)。IR(KBr, cm⁻¹): 357, 3299, 3073, 2945, 2837, 1673, 1650, 1560, 1463, 1431, 1200, 1136, 797, 728, 533。元素分析: 按 $\text{C}_{20}\text{H}_{38}\text{N}_8\text{O}_4$ 的计算值(%): C, 52.86; H, 8.37; N, 24.67; 实验值(%): C, 52.71; H, 8.42; N, 24.55。

1.2.3 二氧大环配体 **2** 的合成

将 0.025 mol 丙二酸二乙酯溶于 500 mL 绝对乙醇,在氮气氛下,滴入 0.025 mol 1,4,8,11-四氮杂十一烷,回流 5 d。旋转蒸发除去溶剂使溶液体积减少至约 50 mL,冷却结晶。过滤后,分别用冷乙醇和乙醚洗涤,用乙醇重结晶,得白色晶状沉淀 **2**,收率 20%。m.p. 175~177 °C(文献值^[11]:176~177 °C)。IR (KBr, cm⁻¹): 3 325, 3 053, 2 932, 2 801, 1 672, 1 630, 1 553, 1 432, 1 148, 1 043, 760, 711, 546。元素分析:按 C₁₀H₂₀N₄O₂ 的计算值(%):C, 52.61; H, 8.83; N, 24.55; 实验值(%):C, 52.66; H, 9.01; N, 24.20。

1.3 配合物的合成

1.3.1 配合物 Cu₂·**1**

在搅拌下,将 2.27 g(约 5 mmol)配体 **1** 溶于 80 mL 水中,慢慢加入 2.8 g(约 11.2 mmol) CuSO₄·5H₂O 的 2 mL 水溶液,30 min 后,调节溶液 pH 约等于 7,加热回流 30 min。趁热过滤,弃去少量残渣,将紫红色滤液在旋转蒸发仪上浓缩至约 30 mL,冷却结晶。过滤,用乙醇洗涤 3 次,用水重结晶,硅胶真空干燥,得紫红色结晶 2.5 g,收率 71%。元素分析:按 C₂₀H₅₀N₈O₁₂Cu₂ 的计算值(%):C, 33.29; H, 6.98; N, 15.52; Cu, 17.61; 实验值(%):C, 33.15; H, 7.23; N, 15.47; Cu, 17.94。IR (KBr, cm⁻¹): 3 172, 2 959, 2 915, 2 874, 2 846, 1 585, 1 550, 1 445, 1 373, 1 328, 1 258, 1 193, 1 109, 1 077, 1 049, 983, 896, 737, 716, 665。

1.3.2 配合物 Cu·**2**

参照文献^[12]合成。在搅拌下,将 1.21 g(约 5 mmol) Cu(NO₃)₂·3H₂O 的 10 mL 乙醇溶液慢慢滴入 1.46 g(约 5 mmol)配体 **2** 的 10 mL 乙醇溶液中,滴加完毕后继续搅拌 20 min,加热回流 15 min,过滤,乙醇洗涤 3 次,乙醇-H₂O 重结晶,干燥,得桃红色沉淀。元素分析:按 C₁₀H₁₈N₄O₂Cu 的计算值(%):C, 41.44; H, 6.26; N, 19.32; Cu, 21.93; 实验值(%):C, 41.53; H, 6.99; N, 19.24; Cu, 22.26。

1.4 动力学测量

实验时,于 400 nm 处跟踪 PNPP 水解产物对硝基苯酚的生成速度以监测反应。实验条件为:温度 30±0.1 °C,用 NaNO₃ 维持离子强度 *I*=0.10, pH 值由 Tris 缓冲液控制。用微量注射器将适量的 PNPP 乙腈溶液注入到已恒温的装有金属配合物缓冲溶液的比色皿中引发反应,反应在准一级条件下进行。根据公式 $\ln(A_{\infty}-A_t)-\ln(A_{\infty}-A_0)=-k_{\text{obsd}}t$,以最小二乘法拟合得到表观速率常数 k_{obsd} 。

2 结果与讨论

2.1 配合物的组成

2.1.1 组成比的确定

为了确定配合物 Cu₂·**1** 中配体 **1** (此处用 **L** 表示)与铜(II)离子的组成比,我们在与配合物合成完全相同的条件下,分别用摩尔比法和等物质的量系列法(Job 法)进行了组成比的测定。

图 1 为固定配体 **1**(即 **L**)浓度为 2.5×10⁻³ mol·L⁻¹ 时,改变 Cu²⁺浓度所测得的溶液的紫外可见吸收光谱图。由图 1 可见,当向溶液中加入不同量的 Cu²⁺ 时,吸收光谱的形状相同,峰位置也几乎相同。这就表明,在合成条件下,配体 **1** 与 Cu²⁺ 只形成一种配合物(λ_{max} =522 nm),而且,它们都与合成的配合物在溶液中的吸收光谱完全相同。用波长为 λ_{max} =522 nm 处溶液的吸光度 *A* 对相应溶液中铜离子浓度与配体 **1** 浓度的比值作图,得图 2。从图 2 可知,当溶液中铜

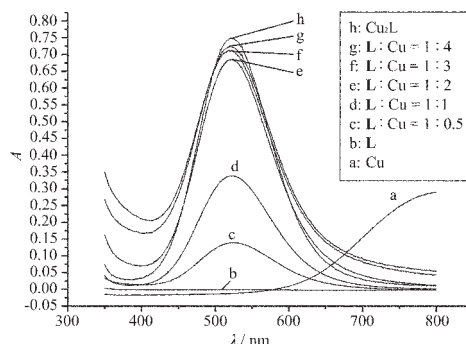


图 1 固定 $c_L=2.5 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 溶液的紫外可见吸收光谱随 Cu²⁺ 离子浓度的变化

Fig.1 Variation of UV-Vis spectra vs Cu²⁺ concentration at $c_L=2.5 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$

Numbers in plot are ratio of $c_L / c_{\text{Cu}^{2+}}$ in aqueous solution.

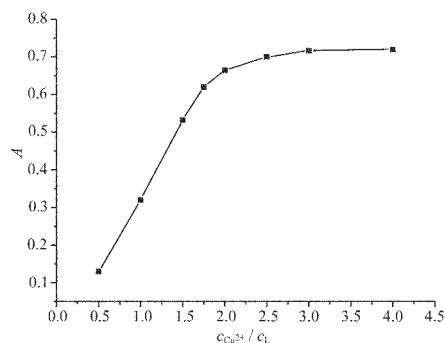


图 2 固定 $c_L=2.5 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 溶液吸光度随 Cu²⁺ 离子浓度的变化

Fig.2 Variation of absorbance vs Cu²⁺ concentration at $c_L=2.5 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$

离子浓度与配体浓度的比值约为 2 时, 曲线发生转折。这就显示, 当配体 **1** 和铜离子形成配合物时, 其组成比为 $L:M=1:2$ 。

为进一步确证配合物的组成比, 又用等物质的量系列法(Job 法)进行了测定。图 3 为固定配体 **1** 与铜离子的总浓度为 $7.50 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 改变两者的浓度比所测得的溶液的吸收光谱。由图 3 可见, 当配体 **1** 与铜离子生成配合物时, 无论是配体过量还是铜离子过量, 皆生成同一种配合物($\lambda_{\text{max}}=522 \text{ nm}$)。采用波长 $\lambda_{\text{max}}=522 \text{ nm}$ 处溶液的吸光度对相应溶液中配体浓度与配体和铜离子总浓度之比 $c_L/(c_L+c_M)$ 作图, 得图 4。从图 4 可知, 当上述比值为 0.32 即配体与金属离子浓度的比值 $c_L:c_M \approx 1:2$ 时, 溶液吸光度最大, 说明溶液中配合物的组成比 $L:M=1:2$, 与摩尔比法

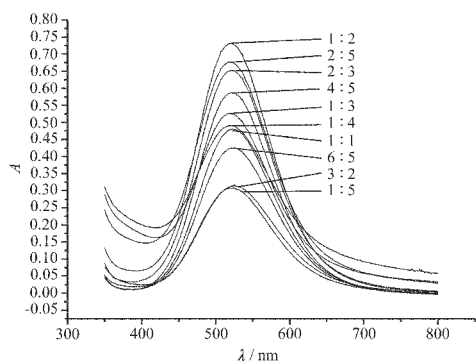


图 3 固定 $c_L+c_{\text{Cu}^{2+}}=7.5 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 溶液的紫外可见吸收光谱图随 $c_L/c_{\text{Cu}^{2+}}$ 比值的变化

Fig.3 UV-Vis spectra for the solution of $c_L+c_{\text{Cu}^{2+}}=7.50 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$
Numbers in plot are ratio of $c_L/c_{\text{Cu}^{2+}}$ in aqueous solution.

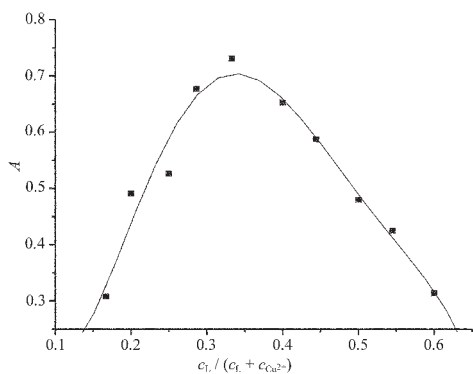


图 4 固定 $c_L+c_{\text{Cu}^{2+}}=7.50 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 溶液吸光度随 $c_L/(c_L+c_{\text{Cu}^{2+}})$ 比值的变化

Fig.4 Job plots for the complexation of the ligand and Cu^{2+} in solution $c_L+c_{\text{Cu}^{2+}}=7.50 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$

所得结果相同。所以, 我们认为合成配合物的组成比为 $1:2$, 该结论也被配合物的元素分析结果所证实(见下面讨论)。

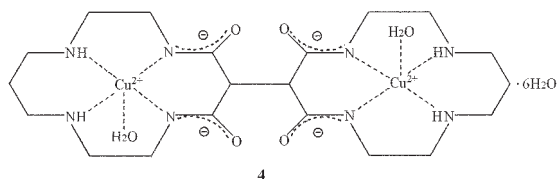
2.1.2 热重/差热分析

为了了解所合成的配合物中是否含有结晶水及其数目, 对配合物 $\text{Cu}_2 \cdot \mathbf{1}$ 进行了热重分析。结果表明, 在空气气氛下, 配合物分别在温度为 $45 \sim 103 \text{ }^\circ\text{C}$ 间和 $127 \sim 141 \text{ }^\circ\text{C}$ 间失重, 失重率分别为 18.45% 和 3.44% 。我们认为, 在这两个温度区间, 失去的是结晶水, 分别对应于 7 分子结晶水和 1 分子结晶水。差热曲线上在 $89.3 \text{ }^\circ\text{C}$ 和 $131.1 \text{ }^\circ\text{C}$ 的两个峰也证实了这一点。故我们推测, 配合物中共含有 8 分子结晶水。

2.1.3 元素分析

为了确证配合物的组成, 我们用元素分析仪测定了 C、H、N 元素的含量, 用 EDTA 配位滴定法测定了配合物中金属铜元素的含量, 其结果为: $\text{C}_{20}\text{H}_{50}\text{N}_8\text{O}_{12}\text{Cu}_2$, 理论值 (%): C, 33.29; H, 6.98; N, 15.52; Cu, 17.61; 实测值 (%): C, 33.15; H, 7.23; N, 15.47; Cu, 17.94。

综上所述, 所合成的配合物 $\text{Cu}_2 \cdot \mathbf{1}$ 的组成应为: $\text{Cu}_2\text{C}_{20}\text{H}_{34}\text{N}_8\text{O}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$, 结合下面的动力学特征, 我们推测 $\text{Cu}_2 \cdot \mathbf{1}$ 的结构可能为 **4**。



2.2 PNPP 水解动力学

2.2.1 pH=7.00, 30 °C 时 PNPP 水解速率比较

表 1 分别列出了双环二氧大环四胺 **1** 的双核铜配合物 **4** 及单环二氧大环四胺 **2** 的单核配合物 $\text{Cu} \cdot \mathbf{2}$ 在 $\text{pH}=7.00, 30 \text{ }^\circ\text{C}$ 时, 催化 PNPP 水解的假一级速

表 1 $\text{pH}=7.00, 30 \text{ }^\circ\text{C}$ 时 PNPP 水解的表现一级速率常数 k_{obsd}^*

Table 1 Pseudo-first-order Rate Constants(k_{obsd}) for Hydrolysis of PNPP in Different Systems at $\text{pH}=7.00, 30 \text{ }^\circ\text{C}^*$

No.	system	$k_{\text{obsd}}/10^{-5} \text{ s}^{-1}$	k_{obsd}/k_0
1	—	$k_0=3.81$	1
2	4	6.610	1.73×10^3
3	$\text{Cu} \cdot \mathbf{2}$	4.96	1.30

* In $0.10 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Tris- HNO_3 buffer, $I=0.1$ (NaNO_3);

$c_{\text{PNPP}}=4.00 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$; $c_4=c_{\text{Cu}^{2+}}=5.00 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$

率常数值。由表 1 可知,与 PNPP 的自发水解 ($k_0=3.81\times 10^{-5}\text{ s}^{-1}$)相比,双核的二氧大环四胺铜配合物 **4** 对 PNPP 水解的加速作用极其显著,当配合物浓度为 $5.00\times 10^{-3}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,反应速率提高了 1.73×10^3 倍。而结构类似的单核铜配合物对 PNPP 的水解却几乎没有加速作用。这就表明,在双核铜配合物催化的 PNPP 水解过程中,两个金属中心之间具有明显的协同作用(见下面讨论)。

2.2.2 pH-速率曲线

为了探究反应的催化活性物种及确定反应的最佳酸度条件,我们研究了不同酸度下,双核铜配合物 **4** 催化 PNPP 水解的情况。图 5 为 PNPP 水解的表观速率常数与 pH 的关系曲线。由图 5 可知,**4** 存在时,PNPP 水解的表观速率常数 k_{obsd} 开始时随 pH 升高而增大,升至某一最大值后就开始下降,因此,其 pH-速率曲线呈“钟形”。这就表明,催化 PNPP 水解的活性物种为双核铜配合物 **4** 中的 1 个配位水分子

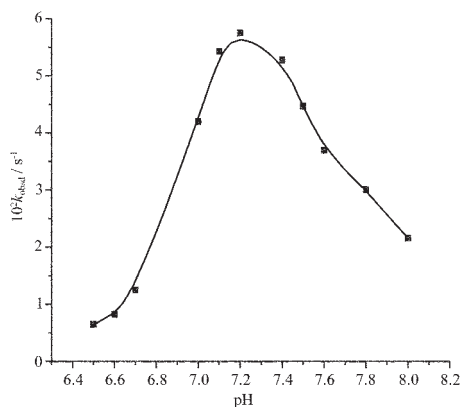
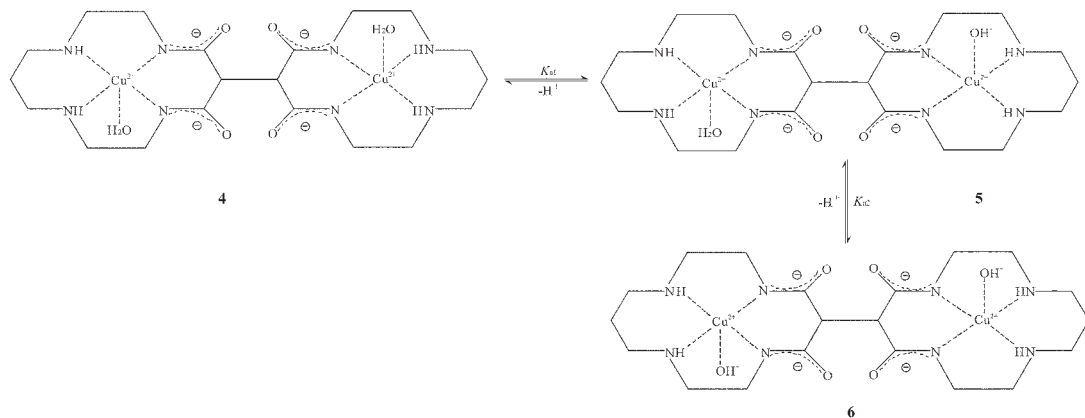


图 5 双核配合物 **4** 催化 PNPP 水解的 pH-速率曲线

Fig.5 pH-rate profile for dinuclear complex **4** catalyzed hydrolysis of PNPP

$$c_4 = 2.5\times 10^{-3}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}; c_{\text{PNPP}} = 4.00\times 10^{-5}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$$



Scheme 2

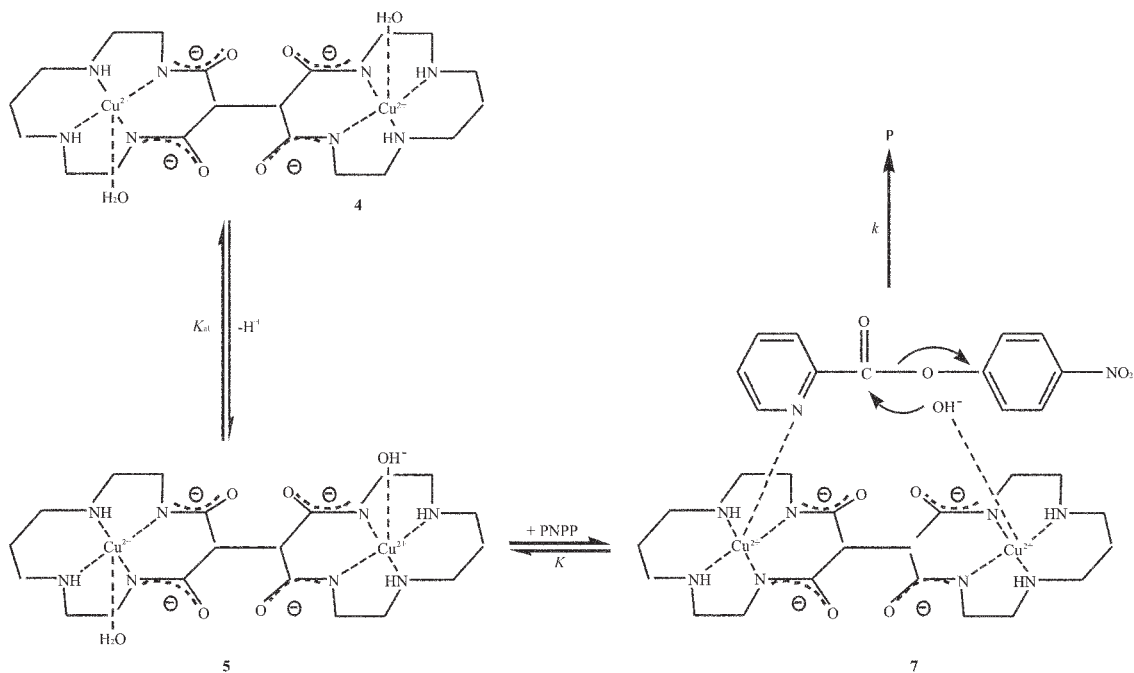
失去 1 个质子后产生的物种 **5**。从配合物 **4** 的结构可知,在水溶液中,2 个配位水分子可分别失去 1 个质子产生相应的去质子物种 **5**,**6**(见 Scheme 2)。而从上述“钟形”曲线两边拐点对应的 pH 值,还可求出双核铜配合物 **4** 中两个水分子的 $\text{p}K_{\text{a}}$ 值: $\text{p}K_{\text{a}1}=6.98$, $\text{p}K_{\text{a}2}=7.49$ 。由于这两个 $\text{p}K_{\text{a}}$ 值很接近,故由电位滴定法很难加以区分。

2.2.3 反应机理探讨

研究表明,那些具有双金属或多金属中心的天然水解酶在催化底物水解过程中,通常遵循“双功能机理”^[1,13],即某些金属中心参与结合底物,并使之活化;另一些金属中心则与亲核剂如 OH^- 配位,并通过对底物的分子内亲核进攻而实现催化。

对双核的二氧大环四胺铜配合物 **4** 催化的 PNPP 水解反应,我们认为,其催化机理很可能是类似的“双功能催化机理”。根据上面的讨论,水解反应的活性物种为 **5**,因此,其催化机理可能为:首先,配合物 **4** 去质子化形成活性物种 **5**,然后,底物 PNPP 通过其吡啶 N 原子取代 **5** 中的配位水分子而与活性物种 **5** 中的铜原子配位,形成与天然酶催化过程中产生的“酶-底物复合物”类似的中间活性配合物 **7**,实现与活性物种的结合。该过程是一个快速进行的预平衡过程。紧接着,与另一个铜原子配位的羟基发动对底物 PNPP 羰基碳的分子内亲核进攻而引发水解,生成产物 P,这是水解的决速步骤,如 Scheme 3 所示。

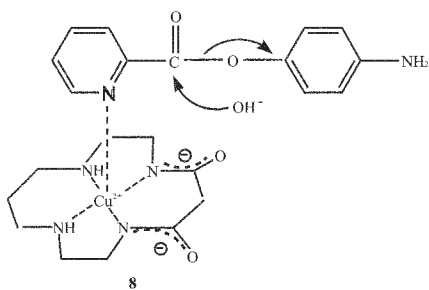
从以上机理可知,在催化过程中,2 个金属离子相互协同^[6,14],1 个金属离子作为路易斯酸结合并活化底物,模拟了天然酶活性中心上结合部位的功能;另 1 个金属离子起路易斯酸作用,降低了配位水分子的 $\text{p}K_{\text{a}}$ (水合铜离子 $\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_4^{2+}$ 中,水分子的 $\text{p}K_{\text{a}}$ 为



Scheme 3

10.7^[15]),使水分子更容易去质子化成为亲核剂,去进攻底物羰基碳而引发分子内亲核反应,从而模拟了天然酶活性中心中催化功能团的催化功能;此外,金属离子还可以稳定带负电荷的中间体,这有利于水分子的亲核进攻和离去基团的离去。

试验表明,结构类似的单核铜配合物 **8** 对 PNPP 的水解表现出很低的活性(见表 1),这是因为其水解过程可能是经由以下机理实现的(见 Scheme 4)。在该机理中,底物 PNPP 与单核铜配合物 **8** 结合后,由外部氢氧根离子进攻底物羰基而导致水解。在此过程中,由于在中性或弱碱性条件下溶液中 OH⁻ 浓度很低,且在空间上又未能被“固定”在底物羰基附近,而是游离于整个溶液中。因而,底物羰基被 OH⁻ 进攻的机会很小,水解很慢。但在双核配合物 **4** 存在时,情况则完全不同。一方面,参与亲核进攻的亲核剂是与金属离子配位的 OH⁻ 而非游离的 OH⁻,

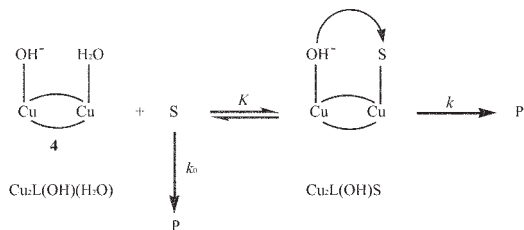


Scheme 4

其浓度比近中性条件下溶液中游离 OH⁻ 浓度高得多。另一方面,由于另外一个金属离子与底物的配位而使与金属离子配位的 OH⁻ 处于底物羰基附近,在空间位置上非常有利于亲核进攻的进行。显而易见,正是由于两个金属离子之间的协同作用,使得反应过程成为与天然酶催化过程十分相似的分子内催化过程,导致水解反应的速度远远高于类似的单核铜配合物参与的水解过程。其他研究者^[5c,5f,5g,6b,16]也报道了类似的研究结果。

2.2.4 水解过程的定量处理

根据上面的讨论,双核二氧大环四胺铜配合物 **4** 催化 PNPP 水解的活性物种为 **4** 的去质子化物种 **5**,它按 Scheme 3 所示的机理催化底物生成产物。但在溶液中,底物 PNPP 除了按 Scheme 3 所示过程生成产物外,由于本身的自发水解也能形成产物。总的水解过程如 Scheme 5 所示。



Scheme 5

在 Scheme 5 中,S 代表底物 PNPP,K 为底物与活性物种之间的结合常数,k 为底物-活性物种复合

物分解的一级反应速率常数, k_0 为底物自发水解的表观一级速率常数。

依照速率定律, Scheme 5 的速率方程为:

$$v = k_{\text{obsd}} c_{\text{S}_i} = k c_{\text{Cu}_2\text{L}(\text{OH})\text{S}} + k_0 c_{\text{S}} \quad (1)$$

显然有

$$c_{\text{S}_i} = c_{\text{S}} + c_{\text{Cu}_2\text{L}(\text{OH})\text{S}} \quad (2)$$

上式中, k_{obsd} 为底物水解的表观一级速率常数, c_{S_i} 为溶液中底物的总浓度, c_{S} 为未与活性物种配位的底物浓度, $c_{\text{Cu}_2\text{L}(\text{OH})\text{S}}$ 是底物与活性物种形成的复合物的浓度。

合并方程(1)、(2)并整理得

$$k_{\text{obsd}} = \frac{k_0 + k \frac{c_{\text{Cu}_2\text{L}(\text{OH})\text{S}}}{c_{\text{S}}}}{1 + \frac{c_{\text{Cu}_2\text{L}(\text{OH})\text{S}}}{c_{\text{S}}}} \quad (3)$$

由 Scheme 5

$$K = \frac{c_{\text{Cu}_2\text{L}(\text{OH})\text{S}}}{c_{\text{Cu}_2\text{L}(\text{OH})(\text{H}_2\text{O})} \cdot c_{\text{S}}} \quad (4)$$

从方程(3)、(4)可得

$$\frac{1}{k_{\text{obsd}} - k_0} = \frac{1}{k - k_0} + \frac{1}{K(k - k_0)c_{\text{Cu}_2\text{L}(\text{OH})(\text{H}_2\text{O})}} \quad (5)$$

从 Scheme 2 所示的离解平衡可得

$$c_{\text{Cu}_2\text{L}(\text{OH})(\text{H}_2\text{O})} = \frac{c_{[\text{Cu}_2\text{L}(\text{H}_2\text{O})_2]}}{Q} \quad (6)$$

其中, $c_{[\text{Cu}_2\text{L}(\text{H}_2\text{O})_2]}$ 为溶液中配合物的总浓度, 且

$$Q = 1 + \frac{c_{\text{H}^+}}{K_{\text{a1}}} + \frac{K_{\text{a2}}}{c_{\text{H}^+}} \quad (7)$$

将方程(6)代入(5)得

$$\frac{1}{k_{\text{obsd}} - k_0} = \frac{1}{k - k_0} + \frac{Q}{K(k - k_0)c_{[\text{Cu}_2\text{L}(\text{H}_2\text{O})_2]}} \quad (8)$$

根据方程(8), 当溶液的 pH 固定时, 用 $1/(k_{\text{obsd}} - k_0)$ 对配合物总浓度的倒数 $1/c_{[\text{Cu}_2\text{L}(\text{H}_2\text{O})_2]}$ 作图, 应得一条直线。图 6 为实验数据按该法处理后所得的曲线。由图可见, $1/(k_{\text{obsd}} - k_0)$ 与 $1/c_{[\text{Cu}_2\text{L}(\text{H}_2\text{O})_2]}$ 之间线性关系良好 (相关系数 $r=0.99$), 说明上面假设的机理是合理的。由直线的斜率和截距, 还可求得 K 和 k , 结果列于表 2。

图 7 给出了双核铜配合物 4 存在下, PNPP 水解的表观一级速率常数 k_{obsd} 与配合物浓度间的关系。从图 7 可见, 表观一级速率常数 k_{obsd} 随配合物浓度升高而增大时, 其增大的速度逐渐变缓, 有趋于“饱和”的趋势, 但这种速率变慢的趋势不是很明显。

表 2 双核铜配合物 4 存在下, PNPP 水解的 K 和 k 值^a

Table 2 K and k of the hydrolysis of PNPP in the presence of dinuclear complex 4

No.	Catalyst	$10^3 k / \text{s}^{-1}$	$10^{-3} K / (\text{mol}^{-1} \cdot \text{L})$
1	4	9.74	0.771
2	Zn ²⁺ -substituted phenanthroline ^b	0.436	2.06

^a $T=30\text{ }^\circ\text{C}$, $\text{pH}=7.00$ ($0.10\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Tris- HNO_3 buffer), $I=0.1$ (NaNO_3)

^b Reference^[17], $T=25\text{ }^\circ\text{C}$, $\text{pH}=7.00$ ($0.01\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ N-ethylmorpholinebuffer)

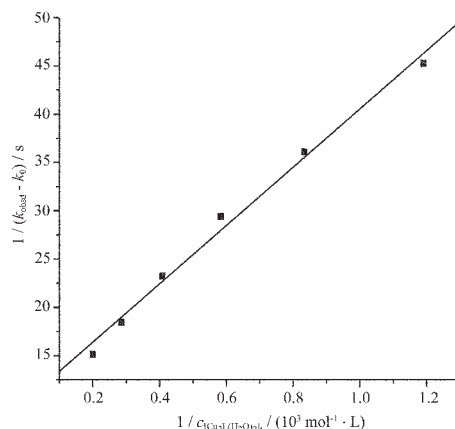


图 6 PNPP 水解的 $1/(k_{\text{obsd}} - k_0)$ 与 $1/c_{[\text{Cu}_2\text{L}(\text{H}_2\text{O})_2]}$ 的关系图

Fig.6 Plots of $1/(k_{\text{obsd}} - k_0)$ vs $1/c_{[\text{Cu}_2\text{L}(\text{H}_2\text{O})_2]}$ for the hydrolysis of PNPP

$T=30\text{ }^\circ\text{C}$, $\text{pH}=7.00$ ($0.10\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Tris- HNO_3 buffer), $I=0.1$ (NaNO_3), $c_{\text{PNPP}}=4.00 \times 10^{-5}\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$.

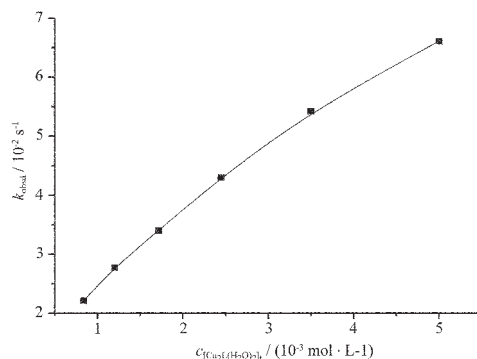


图 7 PNPP 水解的表观一级速率常数 k_{obsd} 与配合物浓度 $c_{[\text{Cu}_2\text{L}(\text{H}_2\text{O})_2]}$ 的关系曲线

Fig.7 Plot of the apparent first order rate constant k_{obsd} for the hydrolysis of PNPP vs complex $[\text{Cu}_2\text{L}(\text{H}_2\text{O})_2]$ concentration

$T=30\text{ }^\circ\text{C}$, $\text{pH}=7.00$ ($0.10\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Tris- HNO_3 buffer), $I=0.1$ (NaNO_3), $c_{\text{PNPP}}=4.00 \times 10^{-5}\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$.

这就表明, 底物对配合物的亲和性不大^[17]。这与定量处理的结果是一致的。从表 2 可知, 底物 PNPP 与活

性物种的结合常数 K 为 $771 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L}$, 并不大, 这进一步证实了上述假设机理的合理性。

3 结 论

双环二氧大环四胺配体的双核铜配合物催化 PNPP 水解时, 遵循与天然水解酶类似的“双功能催化机理”。两个金属离子作为双路易斯酸中心, 一个用于结合底物并使之活化, 发挥天然酶中活性部位上结合中心的功效; 另一个用于键合水分子, 降低水分子的 $\text{p}K_{\text{a}}$, 使水分子活化, 作为亲核剂进攻底物, 担负了天然酶中催化功能团的责任, 两者各有分工, 相互协同, 使底物的水解过程类似于天然酶参与的分子内亲核催化过程, 催化效率大大高于类似的单核配合物。因此, 如何通过对双核配合物的分子设计, 使两个金属中心的配位环境更有利于两者间的相互协同, 以达到更高的催化效率, 将是人工酶研究者努力的重要方向。

参考文献:

- [1] (a) Dismukes G C. *Chem. Rev.*, **1996**, **96**:2909~2926
(b) Wilcox D E. *Chem. Rev.*, **1996**, **96**:2435~2458
- [2] (a) Chin J. *Acc. Chem. Res.*, **1991**, **24**:145~152
(b) Tsubouchi A, Bruice T C. *J. Am. Chem. Soc.*, **1995**, **117**:7399~7411
- [3] (a) Chin J. *Curr. Opinion Chem. Biol.*, **1997**, **1**:514~521
(b) Williams N H, Takasaki B, Chin J. *Acc. Chem. Res.*, **1999**, **32**:485~493
(c) Molenveld P, Engbersen J F J, Reinhoudt D N. *Chem. Soc. Rev.*, **2000**, **29**:75~86
(d) Hegg E L, Burstyn J N. *Coord. Chem. Rev.*, **1998**, **173**:133~165
- [4] (a) Xiang Y, Zeng X C, Cheng S Q, Li Y T, Xie J Q. *J. Colloid. Interface Sci.*, **2001**, **235**:114~118
(b) Jiang F B, Jiang B Y, Yu X Q, Zeng X C. *Langmuir*, **2002**, **18**:6769~6774
- [5] (a) Liu S, Hamilton A D. *Chem. Commun.*, **1999**:587~588
(b) Jurek P E, Jurek A M, Martell A E. *Inorg. Chem.*, **2000**, **39**:1016~1020
(c) Bazzicalupi C, Bencini A, Bianchi A, et al. *Inorg. Chem.*, **1997**, **36**:2784~2790
(d) Arimura K, Ohba M, Yokoyama T, Okawa H. *Chem. Lett.*, **2001**:1134~1135
(e) Machinaga H, Matsifuji K, Ohba M, Kodera M, Okawa H. *Chem. Lett.*, **2002**:716~717
(f) Koike T, Inoue M, Kimura E, Shiro M. *J. Am. Chem. Soc.*, **1996**, **118**:3091~3099
(g) Kim J H. *Chem. Lett.*, **2000**:156~157
- [6] (a) Wahnon D, Lebus A M, Chin J. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1995**, **34**:2412~2414
(b) Young M J, Chin J. *J. Am. Chem. Soc.*, **1995**, **117**:10577~10578
(c) Seo J S, Sung N D, Hynes R C, Chin J. *Inorg. Chem.*, **1996**, **35**:7472~7473
(d) Williams N H, Lebus A M, Chin J. *J. Am. Chem. Soc.*, **1999**, **121**:3341~3348
- [7] (a) Kimura E. *J. Coord. Chem.*, **1986**, **15**:1~28
(b) Lampeka Y D, Gavrich S P. *J. Coord. Chem.*, **1990**, **21**:351~362
(c) Fabbriizzi L, Forlini F, Perotti A, Seghi B. *Inorg. Chem.*, **1984**, **23**:807~813
- [8] Wagner T R, Burrows C J. *Tetrahedron Lett.*, **1988**, **29**:5091~5094
- [9] Cheng S Q, Zeng X C. *J. Dispersion Sci. Technol.*, **2000**, **21**:655~662
- [10] Sigman D S, Jorgensen C T. *J. Am. Chem. Soc.*, **1972**, **94**:1724~1730
- [11] Tabushi I, Taniguchi Y, Kato H. *Tetrahedron Lett.*, **1977**:1049~1052
- [12] Bu X H, An L D, Cao X C, Zhang R H, Clifford T, Kimura E. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, **1998**:2247~2252
- [13] (a) Kim E E, Wyckoff H W. *J. Mol. Biol.*, **1991**, **218**:449~464
(b) Steinhagen H, Helmchen G. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1996**, **35**:2339~2342
- [14] (a) Rosso N D, Szpoganicz B, Martell A E. *Inorg. Chim. Acta*, **1999**, **287**:193~198
(b) Cacciapaglia R, Stefano S D, Kelderman E., et al. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1999**, **38**:348~351
- [15] Lippard S J, Berg J M, Translated by XI Zhen-Feng(席振峰), YAO Guang-Qing(姚光庆), XIANG Si-Fen(项斯芬), et al. *Principles of Bioinorganic Chemistry*(生物无机化学原理). Beijing: Peking University Press, **2000**. 17
- [16] (a) McCure K P, Voss D A, Marks C, Morrow J R. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, **1998**:2961~2963
(b) McCure K P, Morrow J R. *Inorg. Chem.*, **1999**, **38**:6136~6142
- [17] Weijnen J G J, Koudijs A, Engbersen J F G. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. II*, **1991**:1121~1126