

大环三胺铜(II)配合物催化羧酸酯水解动力学研究

郭 惠 王晓莉 李 珺 张逢星*

(西北大学合成与天然功能分子化学教育部重点实验室, 西北大学化学系, 西安 710069)

摘要: 合成了大环三胺配体-1,4,7-三氮杂环癸烷([10]aneN₃), 并对文献方法进行了改进, 简化了步骤, 节省了溶剂。在 25±0.1 °C, 离子强度 $I=0.10\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ (KNO₃) 条件下, 采用 pH 电位滴定法, 测定了配体的质子化常数以及与 Cu(II) 离子的配位平衡常数, 讨论了配体与金属离子的配位情况。通过分光光度法, 在 pH 值 7~9 范围内($2\times 10^{-4}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ tris 做为缓冲溶液), 研究了配合物催化对-硝基苯酚乙酸酯(NA)水解动力学行为, 得到了 NA 酯的水解速率常数 k_{cat} 。结果表明催化水解速率对底物(NA)及配合物浓度均呈一级反应, 水解反应遵循速率方程 $v=(k_{\text{cat}}c_{\text{Cu}^{2+}}+k_{\text{OH}}c_{\text{OH}^{-}}+\cdots)c_{\text{NA}}$; 在中性和弱碱性条件下能很好的催化 NA 的水解, pH=9.19 时, 催化速率常数达到了 $4.405\times 10^{-2}\text{ mol}^{-1}\cdot\text{L}\cdot\text{s}^{-1}$, 优于国际上同类研究报道的结果; 催化反应受酸碱平衡控制。结合滴定结果, 提出了催化反应机理。

关键词: 大环三胺; 水解酶; 催化; 速率常数

中图分类号: O614.12; O612

文献标识码: A

文章编号: 1001-4861(2008)01-0037-06

Kinetics of Carboxyester Hydrolysis Promoted by Copper(II) Complex of Macrocyclic Triamine

GUO Hui WANG Xiao-Li LI Jun ZHANG Feng-Xing*

(Key Laboratory of Synthetic and Natural Functional Molecule Chemistry of Ministry of Education,

Department of Chemistry, Northwest University, Xi'an 710069)

Abstract: Macrocyclic triamine ligand 1,4,7-Triazacyclododecane (tacd) was synthesized according to the literature with the improvement on the scheme of the synthesis in order to saving the solvent and predigesting the process. By pH potentiometer titration, protonation constants of the ligand and equilibrium constants of Cu(II) complex with the ligand were determined. The kinetics of *p*-nitrophenyl acetate(NA) hydrolysis catalyzed by the complex was determined spectrophotometrically at 25±0.1 °C and at pH values of 7.0~9.0, and the catalytic-rate constants k_{cat} for NA hydrolysis were obtained. The results indicate that the catalytic rate follow the law of rate $v=(k_{\text{cat}}c_{\text{Cu}^{2+}}+k_{\text{OH}}c_{\text{OH}^{-}}+\cdots)c_{\text{NA}}$ and the hydrolysis process is controlled by an acid-base equilibrium. At pH value of 9.16, k_{cat} reaches $4.405\times 10^{-2}\text{ mol}^{-1}\cdot\text{L}\cdot\text{s}^{-1}$ which is better than the catalysis of the similar macrocyclic triamine complexes. The results suggest that this complex can be used as the model of hydrolytic metalloenzyme. The mechanism of hydrolysis was also studied by pH potentiometer titration.

Key words: macrocyclic triamine; hydrolytic metalloenzyme; catalysis; rate constant

自然界存在许多天然金属水解酶, 它们能水解蛋白质、磷脂、DNA 等重要生命物质, 在生命过程中起着非常重要的作用。在一些天然金属水解酶中, 与活性中心金属配位的原子主要来自组氨

酸残基的咪唑氮原子及天冬氨酸的羧基氧原子^[1]。大环多胺因其多氮的配位环境和大环效应, 经常用于构筑金属模拟酶的活性中心, 大环多胺与金属离子形成的配合物对羧酸酯、磷酸酯水解的模

收稿日期: 2007-07-15。收修改稿日期: 2007-11-08。

*通讯联系人。E-mail: zhangfx@nwu.edu.cn; Tel: 13720518808

第一作者: 郭 惠, 女, 30 岁, 博士研究生; 研究方向: 生物无机化学。

拟研究已成为化学生物学中最为活跃的领域之一^[2,3]。

三氮大环作为大环多胺的一个重要分支,其金属配合物一开始就被广泛用作金属酶的模拟物^[4-8]。对于大环三胺来说,常用的配体有 1,4,7-三氮杂环壬烷 ([9]aneN₃)、1,4,7-三氮杂环癸烷 ([10]aneN₃)、1,5,9-三氮杂环十二烷 ([12]aneN₃)。目前所报道的具有水解酶功能的大环三胺配合物皆为三氮九元环和三氮十二元环配合物,而三氮十元环的金属配合物能否作为水解酶模型物未见文献报道。另外,虽然 Cu(II)在水解金属酶中并不多见,但 Cu(II)的配合物往往显示出很高的催化活性^[9]。为此,我们改进文献方法,合成了十元大环三胺配体([10]aneN₃),采用

pH 电位滴定法测定了配体的质子化常数以及铜(II)配合物的稳定常数;利用分光光度法,研究了[10]aneN₃的铜(II)配合物催化对-硝基苯酚乙酸酯(NA)的水解动力学行为。

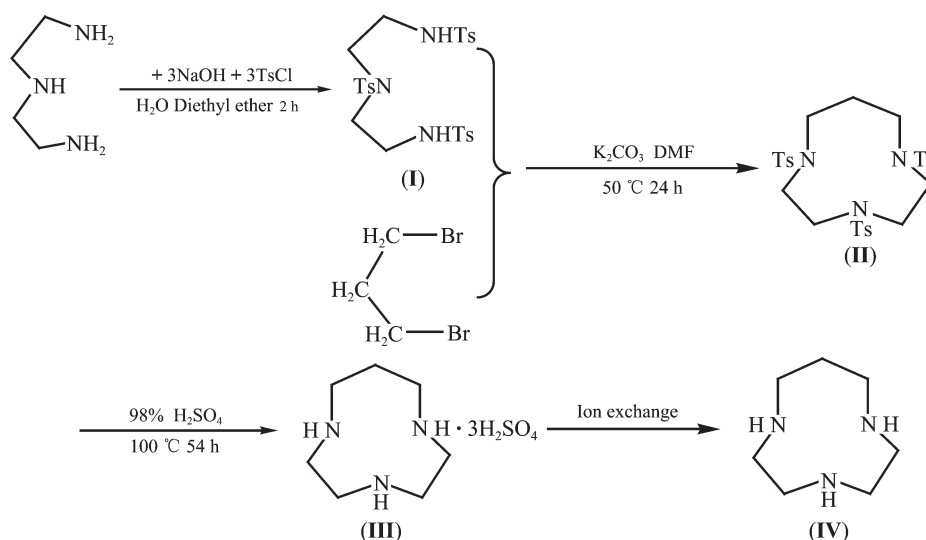
1 实验部分

1.1 试剂

本文所用的试剂均为分析纯试剂,乙腈以及 *N,N*-二甲基甲酰胺 (DMF) 在氢化钙存在下蒸馏提纯, K₂CO₃ 在 100 °C 真空干燥 24 h。对硝基苯酚乙酸酯在干燥乙醚中重结晶提纯。

1.2 配体的合成

配体 L 的合成路线如下图所示。



I 的合成:按文献^[10]合成,产率 87%, m.p. 173.1~174.2 °C (文献值^[10]: m.p. 173~175 °C)。C₂₅H₃₁N₃S₃O₆ 元素分析: 计算值(%): C 53.09; H 5.48; N 7.43; 实测值(%): C 53.49; H 5.268; N 7.29。

II 的合成^[11]:将 11.3 g (20 mmol) **I** 溶于 240 mL 干燥的 DMF 中,加入 3.45 g (25 mmol) 干燥的 K₂CO₃ 固体,通入 N₂,把 4.04 g (20 mmol) BrCH₂CH₂CH₂Br 溶于 300 mL 干燥的 DMF 中,50 °C 下逐滴滴入上述溶液中,6 h 滴完,滴完后继续搅拌反应 18 h。然后减压蒸馏蒸去一部分 DMF,倾入 1 L 的冰水中,析出大量白色固体,抽滤,用水、乙醇充分洗涤,然后用乙醇/氯仿(1:1, V/V)混合溶剂重结晶。产率: 65%。m.p. 234~235.2 °C (文献值^[10]: m.p. 234~236 °C)。C₂₅H₃₅N₃S₃O₆ 元素分析: 计算值(%): C 55.54; H 5.78; N 6.94。实测值(%): C 55.02; H 5.995; N 7.062。

III 的合成:按文献^[12]合成,溶于水中得黄色溶液。

IV 的合成:将上述黄色溶液通过 717# 强碱性阴离子交换树脂进行离子交换,用水洗脱,收集碱性洗脱液,得到 **IV** 的水溶液,蒸去水,加入 30 mL 甲醇,逐滴加入浓盐酸,有白色固体析出,抽滤,用乙醇、乙醚洗涤,烘干,得到 **IV** 的盐酸盐即 [10]aneN₃·3HCl。m.p. 220~225 °C。C₇H₂₀N₃Cl₃ 元素分析: 计算值(%): C 33.27; H 7.92; N 16.6。实测值(%): C 32.71; H 8.13; N 16.19。¹H NMR δ_H (以 CDCl₃ 为溶剂): 1.23 (2H, CH₂), 1.8 (3H, NH), 3.0 (12H, CH₂)。

合成大环多胺最经典的方法为 Richman-Atkins 在 1974 年提出的五步合成法^[13],其中包括二乙撑三胺和 1,3-丙二醇经对甲苯磺酰化、成盐和关环、脱保护基、碱化萃取等。这一方法实验步骤较多,保护和去保护耗费试剂量大,操作不便。因此,我们仿照文献对这一方法进行了改进:只对二乙撑三胺进行磺酰化,然后以 *N,N*-二甲基甲酰胺做溶剂,和 1,3-

二溴丙烷在碱金属碳酸盐存在下进行环化得到环化产物 **II**,省去了把 1,3-丙二醇进行磺酰化以及把对甲苯磺酰化胺做成钠盐的步骤,从而简化了步骤,节省了溶剂。并且在得到配体的盐酸盐及中性配体时,我们并没有用碱化萃取,而是通过把 **III** 溶于少量蒸馏水中,然后过 717# 强碱性阴离子交换树脂进行离子交换的方法进行分离提纯。这一改进比较环保,符合绿色化学的原则。

1.3 pH 电位滴定

配体 L、Cu(NO₃)₂ 浓度均为 1 mmol·L⁻¹。实验温度为 25±0.1 °C, KNO₃ 维持溶液的离子强度 $I=0.10$ mol·L⁻¹。滴定前加入一定量的 0.174 2 mol·L⁻¹ 的 HCl 溶液,使溶液初始 pH 值约为 2.9。用 0.099 6 mol·L⁻¹ NaOH 标准溶液进行滴定,实验在高纯氮气气氛中进行,数据处理采用 SCMAR 程序^[14]。

1.4 对硝基苯酚乙酸酯水解反应动力学的测定

利用 Shimadzu UV-1700 紫外-可见分光光度计进行 NA 水解反应动力学研究。跟踪波长为 400 nm,此波长的吸收为水解所生成的对硝基苯酚的特

征吸收。水解反应的温度控制在 298 K。反应混合物用 0.1 mol·L⁻¹ KNO₃ 控制离子强度,其中加入 2×10^{-4} mol·L⁻¹ tris(三羟甲基氨基甲烷)作缓冲剂控制溶液的 pH 值。为了增加 NA 的溶解性,溶剂中加入 10% 的乙腈。具体试验方法如下:将一定量的配合物(浓度分别为 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 mmol·L⁻¹)和缓冲溶液混合,恒温 5 min,然后加入已恒温的 NA 乙腈溶液(加入后使得 NA 的浓度为 1×10^{-4} mol·L⁻¹),以不加配合物和 NA 的相同溶液为参比,记录 400 nm 处吸收随时间的变化。测定 $A-t$ 斜率,取转化率小于 5% 的点,相关系数大于 0.99,所有实验均重复 3 次。

1.5 对硝基苯酚(HNP)在动力学实验条件下表观摩尔吸光系数的测定

为了测定配合物催化对硝基苯酚乙酸酯的水解速率,我们测定了产物对硝基苯酚在实验条件下相应缓冲溶液中的吸光度,根据文献^[15]以及 Beer 定律 $A=\varepsilon cl$ 计算出对硝基苯酚在不同缓冲溶液中的表观摩尔吸光系数(见表 1)。

表 1 对硝基苯酚(5×10^{-5} mol·L⁻¹)400 nm 的表观摩尔吸光系数

Table 1 Observed molar absorption coefficient ε_{obs} of HNP at 400 nm

pH value	7.002	7.53	8.03	8.36	8.75	9.19
$\varepsilon_{\text{obs}} / (\text{mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1})$	7 652	11 324	16 898	17 448	18 336	18 218

298 K, $I=0.1$ mol·L⁻¹ (KNO₃), 0.2 mmol·L⁻¹ tris, 10% CH₃CN.

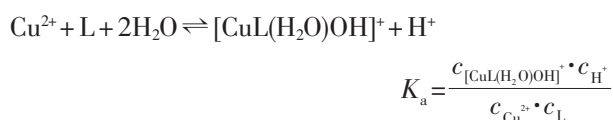
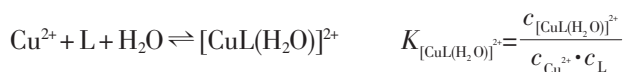
2 结果与讨论

2.1 配体及 Cu(II)配合物的质子化行为:

配体 L 在水溶液中的质子化过程为:



配合物的形成方程式为:



根据此原理,我们用电位法分别对配体以及配合物进行了 pH 滴定,滴定数据用 SCMAR 程序处理,得到了配体的质子化常数、配合物的稳定化常数(见表 2)以及配合物各物种随 pH 值的分布曲线(见图 1)。

表 2 大环三胺类配体的质子化常数以及配合物的稳定化常数

Table 2 Protonation constants of ligand and coordination equilibrium constants of Cu(II) with the ligand

	[9]aneN ₃ ^[16]	[10]aneN ₃	[12]aneN ₃ ^[5]	Complex
lgK ₁	10.59	10.78	12.6	
lgK ₂	6.88	6.57	7.57	
lgK ₃	Strong	2.16	2.4	
lgK _{[Cu₂]²⁺}				18.80±0.01
lgK _{[CuL(H₂O)]²⁺}				0.82±0.03
pK _a				8.40±0.02

25±0.1 °C, $I=0.1$ mol·L⁻¹ (KNO₃).

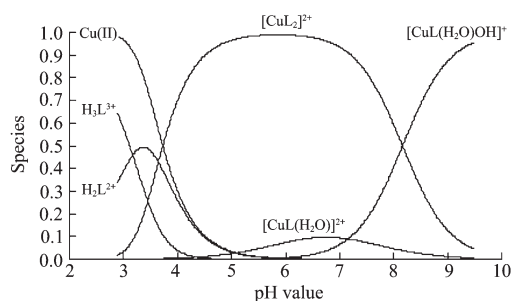


图 1 配合物各物种在不同 pH 值下的分配曲线

Fig.1 Distribution curves for the coordination compounds as a function of pH values

从表 2 可以看出,3 种大环三胺类配体的一级质子化常数 K_1 ,随着环增大而逐渐增大。这是因为亚甲基上的碳原子为供电子基团,随着碳原子数的增多,使得氮原子的电负性增大,所以它加合质子的能力逐渐增强。从图 1 可以看出,在 $\text{pH} < 4$ 时,溶液中主要存在金属离子 Cu^{2+} 和配体的质子化物种(H_3L^{3+} , H_2L^{2+}),随着 pH 值的逐渐增大,配合物开始形成。在 pH 值 4~8 的范围内,形

表 3 不同浓度 Cu(II) 配合物催化 NA 水解的速率 dc/dt Table 3 dc/dt values at different concentration of the complex and pH values

$c_{\text{Cu}^{2+}} / (\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1})$	$\text{dc} / \text{dt} / (\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{s}^{-1})$					
	pH=7.00	pH=7.53	pH=8.03	pH=8.36	pH=8.75	pH=9.19
0	5.239	16.50	36.67	76.16	87.38	199.5
0.50	9.169	21.75	44.79	87.87	114.7	237.2
1.00	13.09	27.00	52.89	99.59	131.1	258.8
1.50	17.03	33.25	60.17	111.3	152.9	285.7
2.00	22.67	39.50	68.12	123.0	174.8	296.5
2.50	26.19	45.76	76.24	134.7	185.7	312.7

298 K, $I=0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ (KNO_3), $c_{\text{NA}}=0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, $0.2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ tris.

由表 3 中的数据作任一 pH 值下的反应速率 dc/dt 与配合物的浓度 $c_{\text{Cu}^{2+}}$ 的关系图(见图 2)。并且在固定配合物浓度的条件下,做催化反应速率 dc/dt 随

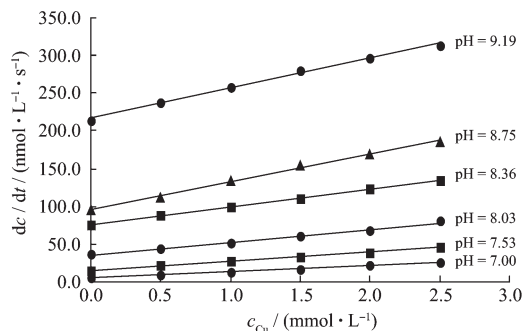


图 2 催化反应速率与配合物浓度的关系

Fig.2 Plot of catalytic hydrolysis rate vs concentration of complex

成了单核配合物 $[\text{CuL}_2]^{2+}$ 和 $[\text{CuL}(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$,显然双大环的配合物 $[\text{CuL}_2]^{2+}$ 占主体,这一配合物已被文献报道^[17]以及我们所得到的单晶^[18]所证实,而单配位水的 Cu(II) 配合物 $[\text{CuL}(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ 含量较少。在 $\text{pH} > 7$ 时,配合物 $[\text{CuL}_2]^{2+}$ 开始分解,形成双配位水的配合物 $[\text{CuL}(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ 。

2.3 配合物对 NA 的催化水解行为

NA 的水解反应为:



反应速率方程为:

$$v = \frac{\text{dc}_{\text{NA}}}{\text{dt}} = \frac{\text{dc}_{\text{NP}}}{\text{dt}} = \frac{1}{\varepsilon} \cdot \frac{\text{d}A}{\text{dt}}$$

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,通过初始斜率法以 A 对 t 作图,所得直线斜率即为 $\text{d}A/\text{dt}$,再根据事先由实验求得的 ε 值和上式可算得 v 。不同 pH 值下的反应速率列于表 3。

NA 浓度的变化关系图 (以 $\text{pH}=8.03$, $c_{\text{Cu}^{2+}}=1.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 为例,见图 3)。

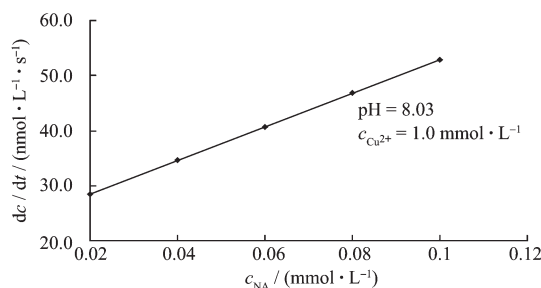


图 3 催化反应速率与 NA 浓度的关系

Fig.3 Plot of catalytic hydrolysis rate vs concentration of NA

由图 2、图 3 可以看出,任一 pH 值下的反应速率 dc/dt 与配合物的浓度 $c_{\text{Cu}^{2+}}$ 呈线性关系,并且在固

定配合物的浓度的条件下,任一 pH 值下的反应速率 dc/dt 与 c_{NA} 也呈线性关系,因此水解反应对 NA 以及配合物均呈一级反应。配合物不存在时,NA 的水解仍能较快进行,这是游离的 OH^- 所起的催化作用。考虑 OH^- 以及和其他杂质催化有关的部分,催化反应速率 v 又可以表示为:

$$v = (k_{\text{cat}} \cdot c_{\text{Cu}^{2+}} + k_{\text{OH}^-} \cdot c_{\text{OH}^-} + \cdots) c_{\text{NA}}$$

表 4 不同 pH 值下 Cu(II)配合物催化 NA 水解的速率常数

Table 4 Catalytic rate-constant k_{cat} for hydrolysis of NA by Cu(II) complex at different pH values

pH value	7.002	7.53	8.03	8.36	8.75	9.19
$k_{\text{cat}} / (\text{mmol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{s}^{-1})$	8.53	11.76	15.72	23.42	39.64	44.05

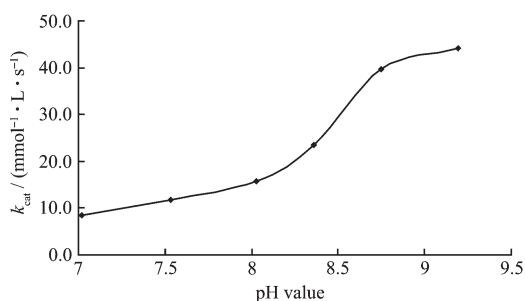


图 4 水解速率常数随 pH 值的变化曲线

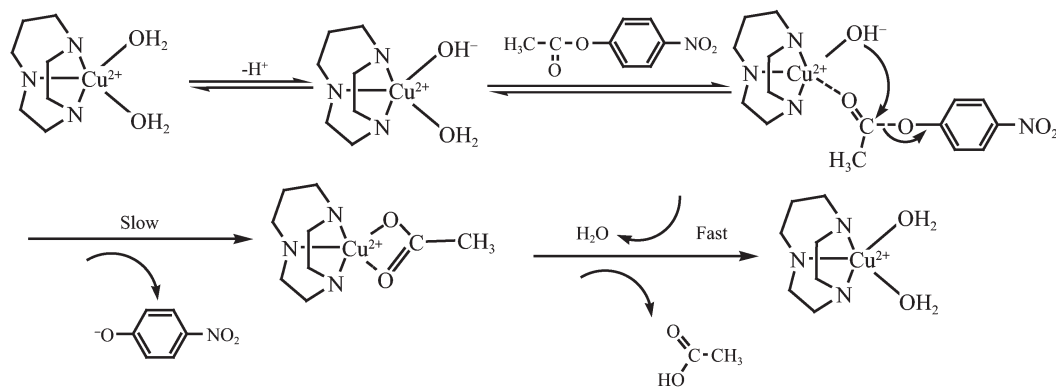
Fig.4 Plot of NA catalytic hydrolysis rate constants k_{cat} vs pH values of the solutions

从图 4 可以看出,配合物催化水解速率常数 k_{cat} 与 pH 值之间呈 S 型曲线关系,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 $\text{pH} \approx 8.4$ 时出现转折点,即配合物中配位水分子的离解常数 $\text{p}K_{\text{a}} \approx 8.4$,这与配合物加

式中 $c_{\text{Cu}^{2+}}$ 为配合物的浓度, k_{cat} 为配合物催化水解的反应速率常数, k_{OH^-} 为缓冲溶液催化水解速率常数。根据此式,在一定的 pH 下,利用表 3 中的数据以 NA 水解的速率 dc/dt 对配合物的浓度 $c_{\text{Cu}^{2+}}$ 线性回归处理($y=A+Bx$, 回归系数 $B=k_{\text{cat}} \cdot c_{\text{NA}}$, 得 $k_{\text{cat}}=B/c_{\text{NA}}$), 可以得到任一 pH 值下的催化速率常数,见表 4。根据表 4 数据,作 k_{cat} 随 pH 值变化曲线见图 4。

合质子反应测得结果(图 1)基本一致($\text{p}K_{\text{a}}=8.5$),说明配合物是以 $[\text{CuL}(\text{OH}_2)\text{OH}]^+$ 为亲核试剂进攻底物而实现其催化作用的。在 pH 为 8.36 时,催化速率常数为 $2.342 \times 10^{-2} \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{s}^{-1}$,在 pH 为 9.19 时,催化速率常数达到了 $4.405 \times 10^{-2} \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{s}^{-1}$,比大环配体 1,5,9-三氮杂环十二烷 Zn(II)配合物^[9]催化效果好($\text{pH}=9.0$ 时, $k=3.6 \times 10^{-2} \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{s}^{-1}$)。

根据文献报道,一般认为具有顺式双配位水的 Cu(II)配合物对底物水解采取双重催化机理。其中包括两部分作用,即(1) Cu(II)离子作为 Lewis 酸和底物的羰基氧作用(即配位水分子与底物的交换),以此削弱 C=O 键的强度来活化底物。(2) 以亲核能力较强的亲核试剂对羰基碳原子进行亲核进攻。因此,根据以上分析以及参考文献,可以拟定以下催化反应机理:



首先,双配位水的 Cu(II)配合物 $[\text{CuL}(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$,由于金属离子的 Lewis 酸活化作用,降低了配位水的 $\text{p}K_{\text{a}}$,使其容易去质子化形成羟基,亲核试剂为 $[\text{CuL}(\text{H}_2\text{O})\text{OH}]^+$ 。然后 $[\text{CuL}(\text{H}_2\text{O})\text{OH}]^+$ 中的金属离子 Cu(II) 与羧酸酯的 C=O 的 O 原子配位,活化了底物,利于亲核试剂进攻并结合碳原子形成五配位中间体,酯

键断裂,对-硝基苯酚离去,形成新的中间体酯,这是速控步骤。然后是平衡步骤,即在水溶液中新的中间体酯中的金属与水配位,金属配合物回到原始状态,并且生成另一水解产物乙酸。这一机理与 Burstyn 所研究的 $[\text{Cu}(\text{9})\text{aneN}_3\text{Cl}_2]$ 配合物催化水解双(对硝基苯酚)磷酸酯(BNPP)的机理相似^[19]。

参考文献:

- [1] JI Liang-Nian(计亮年), HUANG Jin-Wang(黄锦汪), MO Ting-Huan(莫庭焕), et al. *Bioinorganic Chemistry an Introduction*(生物无机化学导论(第二版)). Guangzhou: ZhongShan(SUN YAT-SEN) University Press, **2001**.
- [2] Trawick B N, Daniher A T, Bashkin J K. *Chem. Rev.*, **1998**, **98**(3):939~960.
- [3] XIANG Qing-Xiang(向清祥), XIA Chuan-Qin(夏传琴), YU Xiao-Qi(余孝其), et al. *Chin. J. Org. Chem.(Youji Huaxue)*, **2004**, **24**(9):981~986
- [4] Chin J, Banaszczyk M, Jubian V, et al. *J. Am. Chem. Soc.*, **1989**, **111**(1):186~190
- [5] Kimura E, Shiota T, Koike T, et al. *J. Am. Chem. Soc.*, **1990**, **112**(15):5805~5811
- [6] Shelton V M, Morrow J R. *Inorg. Chem.*, **1991**, **30**(23):4295~4299
- [7] Young M J, Chin J. *J. Am. Chem. Soc.*, **1995**, **117**(42):10577~10578
- [8] Hegg E L, Burstyn J N. *Inorg. Chem.*, **1996**, **35**(26):7474~7481
- [9] Hegg E L, Burstyn J N. *Coord. Chem. Rev.*, **1998**, **173**:133~165
- [10] Koyama H, Yoshino T. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1972**, **45**(2):481~484
- [11] Chavez F, Sherry A D. *J. Org. Chem.*, **1989**, **54**(12):2990~2992
- [12] Searle G H, Geue R J. *Aust. J. Chem.*, **1984**, **37**:959~970
- [13] Richman J E, Atkins T J. *J. Am. Chem. Soc.*, **1974**, **96**(7):2268~2270
- [14] SUN Hong-Wei(孙宏伟). *Thesis for the Doctorate of Nakai University*(南开大学博士学位论文). **1997**.
- [15] LIU Xu-Liang(刘绪良), CHEN Wan-Dong(陈万东), ZHU Shou-Rong(朱守荣), et al. *Chinese J. Inorg. Chem.(Wuji Huaxue Xuebao)*, **2001**, **17**(2):234~237
- [16] Kodama M, Kimura E. *J. C. S. Dalton.*, **1978**:1081~1085
- [17] Chen X M, Yao Y X, Shi K L, et al. *Aust. J. Chem.*, **1995**, **48**:139~144
- [18] Guo H, Zhu H Y, He X L, et al. *Chin. J. Chem.*, **2007**, **25**(6):784~790
- [19] Deal K A, Burstyn J N. *Inorg. Chem.*, **1996**, **35**(10):2792~2798