

Zn(ATP)(N—het)²⁻配合物分子内芳环 间堆积作用^{*}

乐学义¹ 何庭玉¹ 毋福海²

(1 华南农业大学理学院, 广州 510642; 2 广东药学院 卫生系)

摘要 应用 pH 电位滴定法测定了二元 Zn(N—het)²⁺和三元 Zn(ATP)(N—het)²⁻配合物(N—het=3, 4—二甲基吡啶和苯并咪唑, ATP=5'-三磷酸腺苷)在水溶液中($I=0.10\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, $t=15, 25$ 和 35°C)的稳定常数, 三元配合物相对于二元配合物的稳定性用平衡常数 $\Delta\log K_{\text{Zn}}=\log K_{\text{Zn(ATP)(N—het)}}^{\text{Zn(ATP)}}-\log K_{\text{Zn(N—het)}}^{\text{Zn}}$ 表示. 与咪唑的相关值比较, 揭示了三元配合物分子中 N—het 芳环与 ATP 的腺嘌呤环之间存在着堆积作用, 这种作用依赖于配体的结构, 并且随着溶液温度的升高而减弱.

关键词 堆积作用; ATP; 三元配合物; 稳定常数

中图分类号 O 642.43

在已知的酶促反应中, 有六分之一需要 5'-三磷酸腺苷(ATP)或有关的嘌呤辅助因子参加(Leonard, 1982), 并且这些反应常常与金属离子有关, 因此研究 ATP 三元配合物, 尤其是分子内芳环间堆积作用对阐述酶—金属离子—底物以及酶—金属离子—抑制剂作用机制等(Fischer et al, 1980)有着极其重要的意义.

在以前的工作中(Le et al, 1995; Wu et al, 1994), 我们研究了金属离子配位层结构、芳环大小对三元配合物 $\text{M(ATP)(N—het)}^{2-}$ 分子内芳环间堆积作用的影响. 为了进一步研究影响堆积作用的因素, 本文在水溶液中于不同温度($t=15, 25$ 和 35°C)下研究了配合物 $\text{Zn(ATP)(N—het)}^{2-}$ (N—het=3, 4—二甲基吡啶, 苯并咪唑)分子内芳环间的堆积作用. 结果表明, 分子内芳环间的堆积作用与配体的结构有关, 并且随着溶液温度的升高而降低.

1 材料与方法

1.1 材料

5'-三磷酸腺苷二钠盐($\text{Na}_2\text{H}_2\text{ATP}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$)购自 Serva 高级生化公司(德国), 其溶液需当天配制; 高氯酸锌参照文献(日本化学会, 1986)方法制备, 其浓度用 EDTA 标定; 3, 4—二甲基吡啶由 Merck 公司(法国)生产, 使用前同氢氧化钾一起回流 3 h 后蒸馏; 其它试剂均为分析纯. 整个实验过程均使用 2 次蒸馏水.

1.2 稳定常数的测定

溶液 pH 值使用 SA720 型 pH 计(美国奥林公司生产, 精度 0.001 pH 单位)测定, 每次测定前先用 pH 为 4.003、6.864 和 9.184 的标准缓冲溶液(上海爱建现成试剂厂)校正, 测定在($t\pm 0.05$) $^\circ\text{C}$ 的恒温槽中进行, 并通以净化的氮气.

1997—07—08 收稿 乐学义, 男, 36 岁, 讲师, 博士

^{*} 本课题为校长基金资助课题

$$10^{\Delta\log K_{\text{Zn}}} = [\text{Zn}(\text{ATP})(\text{N}-\text{het})^{2-}] / [\text{Zn}(\text{ATP})^{2-}][\text{N}-\text{het}], \quad (5)$$

$\Delta\log K_{\text{Zn}}$ 可根据下列方程式 (Le et al, 1995) 进行计算:

$$\Delta\log K_{\text{Zn}} = \log K_{\text{Zn}(\text{ATP})(\text{N}-\text{het})}^{\text{Zn}(\text{ATP})} - \log K_{\text{Zn}(\text{N}-\text{het})}^{\text{Zn}}, \quad (6)$$

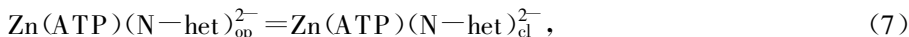
$\Delta\log K_{\text{Zn}}$ 值大小反映了三元配合物相对于母体配合物的稳定性.

表 3 中数据表明, 所有温度下三元配合物 $\Delta\log K_{\text{Zn}}$ 值均比统计值 ($-0.3 \sim -0.5$) (Ji et al, 1993) 高, 有的甚至为正值. 这表明三元配合物中存在着额外的稳定化作用. 这种稳定化作用部分归因于在 $\text{Zn}(\text{ATP})^{2-} + \text{Zn}(\text{N}-\text{het})^{2+} = \text{Zn}(\text{ATP})(\text{N}-\text{het})^{2-} + \text{Zn}^{2+}$ 过程中, Zn^{2+} 配位层结构从六配位转化为五配位或四配位, 有配位水分子从配位层释放出来, 过程熵增加而导致三元配合物相对稳定性增强.

另一更有趣的结果是, 咪唑配合物 $\Delta\log K_{\text{Zn}}$ 值较 3, 4-二甲基吡啶和苯并咪唑的小, 这表明在后二者三元配合物中存在着其它稳定性因素. 由于咪唑与苯并咪唑及 3, 4-二甲基吡啶有类似的配位芳氮原子, 且具有 d^{10} 电子结构的 Zn^{2+} 是一很弱的 π 电子接受体 (即三元配合物中 $\pi \sim \sigma$ 协同作用很弱), 因此推测后二者三元配合物相对较强的稳定性可能主要与 3, 4-二甲基吡啶或苯并咪唑与分子内 ATP 碱基腺嘌呤芳环间存在着较强的堆积作用有关.

2.5 三元配合物分子内的堆积作用

在溶液中, 存在着下列分子内平衡 (Ji et al, 1994):



其中 op 表示开式异构体, cl 表示分子内具有芳环堆积作用的堆积异构体. 相应的平衡常数:

$$K_1 = [\text{Zn}(\text{ATP})(\text{N}-\text{het})_{\text{cl}}^{2-}] / [\text{Zn}(\text{ATP})(\text{N}-\text{het})_{\text{op}}^{2-}], \quad (8)$$

由此推得堆积异构体的百分率:

$$\text{cl}\% = [K_1 / (K_1 + 1)] \times 100, \quad (9)$$

另外, 平衡常数 K_1 还可以据下式 (Wu et al, 1994) 进行计算:

$$K_1 = 10^{\Delta\Delta\log K - 1}, \quad (10)$$

其中:

$$\Delta\Delta\log K = \Delta\log K_{\text{Zn}} - \Delta\log K_{\text{Zn}(\text{op})}. \quad (11)$$

$\Delta\log K_{\text{Zn}}$ 值已计算于表 4 中, 因此要计算 cl% 值, 关键是要获得 $\Delta\log K_{\text{Zn}(\text{op})}$ 值. 由于咪唑环堆积作用很弱 (Tribotet et al, 1987), 所以可选择咪唑配合物的 $\Delta\log K_{\text{Zn}}$ 值作为 3, 4-二甲基吡啶或苯并咪唑近似的 $\Delta\log K_{\text{Zn}(\text{op})}$ 值. 由式 (9~11) 计算的 $\Delta\Delta\log K$ 和 cl% 值列于表 4 中.

结果表明: 3, 4-二甲基吡啶和苯并咪唑三元配合物中都存在着显著的分子内芳环间堆积作用, 这种作用使三元配合物稳定性提高了 0.05~0.65 个对数单位. 在同一温度下, 苯并咪唑的堆积作用小于 3, 4-二甲基吡啶, 这可能归因于: (1) 与 3, 4-二甲基吡啶相比, 苯并咪唑芳环 π 电子云密度较大, 不利于接收 ATP 腺嘌呤芳环上 π 电子而发生堆积; (2) 苯并咪唑芳环上亚氨基易与水分子形成氢键而被溶剂化, 阻碍了苯并咪唑芳环与 ATP 碱基腺嘌呤芳环之间的堆积作用. 另外, 对于同一三元配合物, 随着温度升高, 芳环间堆积作用减弱, 即 $\text{cl}\%(15^\circ\text{C}) > \text{cl}\%(25^\circ\text{C}) > \text{cl}\%(35^\circ\text{C})$, 这可能源于分子内芳环间堆积作用的本质类似于分子间的作用力, 随着溶液温度升高, 芳环热运动增加, 因而相互作用即堆积作用减弱.

3 结论

所研究三元配合物均存在着分子内芳环间堆积作用, 其大小与芳环结构 (π 电子云密度大小及溶剂化作用等) 有关, 且随着溶液温度升高而减弱. 这些结果将有助于我们进一步阐述酶—金属离子—底物或酶—金属离子—抑制剂的作用机理.

参 考 文 献

- 日本化学会编. 1986. 无机化合物手册(第2册). 安家驹, 陈之川, 译校. 北京: 高等教育出版社, 536
- Fisher B E, Sigel H. 1980. Ternary complexes in solution 35 intramolecular hydrophobic ligand interaction in mixed-ligand complexes containing an aliphatic amine acid. *J Am Chem Soc*, 102(9): 2998~3008
- Ji L N, Corfu N A, Sigel H. 1993. Stability of ternary metal ion complexes formed by imidazole and the anion of N-bis(2-hydroxyethyl)glycine (Bicine). Observation of a relatively high stability of the $\text{Zn}(\text{Bicine})(\text{Imidazole})^+$ complex. *Inorg Chim Acta* 206: 215~220
- Le X Y, Wu F H, Song F Y, et al. 1995. Stability of ternary complexes of $\text{M}(\text{ATP})^{2-}$ and heteroaromatic N-base ligands. *J Mol Sci*, 11(3): 113~119
- Lenarick B, Rzepka M, Gbowacki J. 1979. Stability and structure of $\text{Cd}(\text{II})$, $\text{Ni}(\text{II})$, $\text{Cu}(\text{II})$ and $\text{Co}(\text{II})$ complexes of pyridine derivatives: VI comparison of donor properties of alkylpyridines. *Polish J Chem*, 53: 2199~2208
- Leonard N J. 1982. Dimensional probes of enzyme-coenzyme binding sites. *Acc Chem Res*, 15(5): 128~135
- Tribolet R, Martin R B, Sigel H. 1987. Ternary complexes in solution. intramolecular equilibria in metal ion complexes of adenosine 5'-triphosphate(ATP^{4-}): coordination of ammonia or imidazole to $\text{M}(\text{ATP})^{2-}$ releases N-7 from the metal ion coordination sphere. *Inorg Chem*, 26: 638~643
- Wu F H, Song B, Ji L N, et al. 1994. Study on intramolecular stacking interaction of ternary complexes $\text{M}(\text{II})(\text{ATP})^{2-}$ with heteroaromatic N-base ligands. *Chem Res in Chin Univ*, 10(3): 169~174

INTRAMOLECULAR AROMATIC-RING STACKING INTERACTION OF $\text{Zn}(\text{ATP})(\text{N-het})^{2-}$ COMPLEXES

Le Xueyi¹ He Tingyu¹ Wu Fuhai²

(1 College of Sciences South China Agric. Univ., Guangzhou, 510642;

2 Dept. of Hygienics Guangdong Pharmaceutical College)

Abstract

The stability constants of binary $\text{Zn}(\text{N-het})^{2+}$ and ternary $\text{Zn}(\text{ATP})(\text{N-het})^{2-}$ complexes, where $\text{N-het}=3, 4\text{-lutidine}$ or benzimidazole and $\text{ATP}=\text{Adenosine } 5'\text{-triphosphate}$, were determined by potentiometric pH titration in aqueous solution ($t=15, 25$ and 35°C , and $I=0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ NaClO}_4$). The stability of the ternary complexes in relation to the stability of their binary parent complexes was characterized by the equilibrium constants $\Delta\log K_{\text{Zn}}[\Delta\log K_{\text{Zn}}=\log K_{\text{Zn}(\text{ATP})(\text{N-het})}^{2-}-\log K_{\text{Zn}(\text{N-het})}^{2+}]$ corresponding to the equilibrium $\text{Zn}(\text{ATP})^{2-}+\text{Zn}(\text{N-het})^{2+}=\text{Zn}(\text{ATP})(\text{N-het})^{2-}+\text{Zn}^{2+}$. Comparing these data with those of the corresponding complexes containing Imidazole instead of the N-het ligand, it was revealed that an intramolecular aromatic-ring stacking interaction exists between the N-het ligand and the purine moiety of ATP in the ternary complexes and the interaction depended on the aromatic-ring structure of the ligand and decreased with the rise of temperature.

Key words stacking interaction; ATP; ternary complexes; stability constants

质子化 3, 4—二甲基吡啶和苯并咪唑的酸离解常数(p*K*_a)及二元配合物 Zn(N—het)²⁺和三元配合物 Zn(ATP)(N—het)²⁻ 稳定常数 $K_{Zn(N-het)}^{Zn}$ 和 $K_{Zn(ATP)(N-het)}^{Zn(ATP)}$ 值的测定均用 1 mL 0. 105 0 mol/L 的标准 NaOH 溶液分别滴定组成如表 1 所示的两组溶液(分别用 I 和 II 表示). ATP 在滴定前最后一步混合, 且 15 min 内完成滴定, 以尽量减少 ATP 的去磷酸化(Le et al, 1995). 为了得到可靠的结果, 至少测定 3 次. 数据处理在配有 EPSON LQ—1600 打印机的 IBM 80386 计算机上进行, 主程序系从瑞士巴塞尔大学引进的非线性回归程序.

表 1 配体酸常数及配合物稳定常数的测定条件(50 mL, *I* = 0. 1)

常数	溶液组分	<i>c</i> / (mol·L ⁻¹)				
		HClO ₄	NaClO ₄	N—het	Zn(ClO ₄) ₂	Na ₂ H ₂ ATP
$K_{H(N-het)}^H$	I	1. 89×10 ⁻³	9. 0×10 ⁻¹			
	II	1. 89×10 ⁻³	9. 0×10 ⁻¹	1. 0×10 ⁻³		
log $K_{Zn(N-het)}^{Zn}$	I	1. 89×10 ⁻³			3. 3×10 ⁻²	
	II	1. 89×10 ⁻³		1. 0×10 ⁻³	3. 3×10 ⁻²	
log $K_{Zn(ATP)(N-het)}^{Zn(ATP)}$	I	1. 89×10 ⁻³	7. 6×10 ⁻²		8. 3×10 ⁻³	8. 3×10 ⁻³
	II	1. 89×10 ⁻³	7. 6×10 ⁻²	1. 0×10 ⁻³	8. 3×10 ⁻³	8. 3×10 ⁻³

2 结果与分析

2.1 配体 N—het 的酸常数

在实验 pH 值范围内, 配体为一元碱, 因此酸常数可据下列方程式(Wu et al, 1994)进行计算.
 $H^+ + N-het = H(N-het)^+, \quad K_{H(N-het)}^H = [H(N-het)^+] / [H^+][N-het]. \quad (1)$
通过测定上述两组溶液滴定过程中所消耗的标准 NaOH 溶液体积之差, 在 N—het 中和度为 0. 1~0. 9 之间的 pH 值范围内用 Newton—Gauss 非线性最小二乘法程序进行计算, 结果列于表 2 中.

表 2 配体 N—het 酸常数负对数值[$pK_{H(N-het)}^H$]¹⁾

配 体	<i>t</i> / °C	<i>I</i> / (mol·L ⁻¹)	$pK_{H(N-het)}^H$
3, 4—二甲吡啶	15	0. 1(NaClO ₄)	6. 77±0. 01
	25	0. 1(NaClO ₄)	6. 59±0. 01
		0. 5(KNO ₃)	6. 50 ²⁾
	35	0. 1(NaClO ₄)	6. 49±0. 01
苯并咪唑	15	0. 1(NaClO ₄)	5. 82±0. 01
	25	0. 1(NaClO ₄)	5. 66±0. 01
		0. 1(NaClO ₄)	5. 64±0. 01 ³⁾
	35	0. 1(NaClO ₄)	5. 32±0. 01
咪唑	15	0. 1(NaClO ₄)	7. 31±0. 00
	25	0. 1(NaClO ₄)	7. 09±0. 00
		0. 1(NaNO ₃)	7. 05±0. 01 ⁴⁾
	35	0. 1(NaClO ₄)	6. 97±0. 01

1) 所给误差范围为平均值的标准误差; 2) Lenaricik et al, 1979; 3) Wu et al, 1994; 4) Ji et al, 1993

通常酸碱中和反应是一放热过程, 因此随着溶液温度升高, 平衡(1)向左移动, 故 $pK_{H(N-het)}^H$ 减小, 配体碱性减弱. 另外, 25 °C 下的结果与文献值相当一致, 仅因离子强度的改变而稍有变化.

2.2 二元 Zn(N—het)²⁺ 配合物的稳定常数

测定二元配合物稳定常数时, $[Zn^{2+}] : [N-het] = 33 : 1$, 即 Zn^{2+} 离子大大过量于配体, 因此在计算 $pK_{Zn(N-het)}^{Zn}$ 时, 仅考虑 H^+ 、 $N-het$ 、 $H(N-het)^+$ 、 Zn^{2+} 和 $Zn(N-het)^{2+}$ 等(Ji et al, 1993)物种. 应用溶液中的电荷平衡及物料平衡求出 $[Zn^{2+}]$ 、 $[Zn(N-het)^{2+}]$ 和 $[N-het]$, 然后由下列关系式(Ji et al, 1993)计算二元配合物的稳定常数. 结果列于表 3 中.

$Zn^{2+} + N-het = Zn(N-het)^{2+}$, $K_{Zn(N-het)}^{Zn} = [Zn(N-het)^{2+}] / [Zn^{2+}][N-het]$.

(2)

表 3 配合物稳定常数、 $\Delta\log K_{Zn}$ 、 $\Delta\Delta\log K$ [方程(11)] 及 $d\%$ 值¹⁾($I=0.1$)

配 体	<i>t</i> / °C	$\log K_{Zn(N-het)}^{Zn}$	$\log K_{Zn(ATP)(N-het)}^{Zn(ATP)}$	$\Delta\log K_{Zn}$	$\Delta\Delta\log K$	<i>cl</i> /%
3, 4- 二甲基吡啶	15	1. 47±0. 01	1. 91±0. 03	0. 44±0. 03	0. 62±0. 04	76
	25	1. 42±0. 03	1. 73±0. 02	0. 31±0. 04	0. 41±0. 04	61
	35	1. 64±0. 02	1. 60±0. 02	-0. 44±0. 02	0. 16±0. 02	30
苯并咪唑	15	1. 60±0. 02	1. 67±0. 03	0. 07±0. 04	0. 25±0. 04	44
	25	1. 58±0. 01	1. 57±0. 01	-0. 01±0. 01	0. 09±0. 01	19
	35	1. 45±0. 02	1. 30±0. 01	-0. 15±0. 02	0. 05±0. 02	11
咪唑	15	2. 62±0. 01	2. 44±0. 01	-0. 18±0. 02		
	25	2. 51±0. 01	2. 41±0. 01	-0. 10±0. 01		
	35	2. 58±0. 01	2. 38±0. 01	-0. 20±0. 01		

1) 所给稳定常数误差范围为平均值的标准误差, $\Delta\log K_{Zn}$ 和 $\Delta\Delta\log K$ 误差范围按照高斯误差传递计算

结果表明: 在同一温度下, 二元配合物稳定性大小是: 咪唑> 苯并咪唑> 3, 4- 二甲基吡啶, 与碱性大小次序咪唑> 3, 4- 二甲基吡啶> 苯并咪唑不一致. 这是由于在二元配合物分子中, $N-het$ 与 Zn^{2+} 之间的结合主要是 σ 配键, 而 σ 配键的强弱除与配体碱性大小有关外, 还与芳环上 π 电子云密度大小有关, π 电子云密度增大有助于进一步提高配体的配位能力, 因此在二元配合物中, 具有富 π 电子芳环体系的苯并咪唑比缺 π 电子体系的 3, 4- 二甲基吡啶具有更强的配位能力.

2.3 三元配合物的稳定常数

为了研究三元 $Zn(ATP)(N-het)^{2-}$ 配合物分子内芳环间的堆积作用, 本文测定了与下式相关的三元配合物的稳定常数(Ji et al, 1993).

$Zn(ATP)^{2-} + N-het = Zn(ATP)(N-het)^{2-}$, $K_{Zn(ATP)(N-het)}^{Zn(ATP)} = \frac{[Zn(ATP)(N-het)^{2-}]}{[Zn(ATP)^{2-}][N-het]}$, (3)

在如表 1 所示的实验条件下, ATP 与 Zn^{2+} 几乎完全形成了 ($> 90\%$) $Zn(ATP)^{2-}$, 故数据处理类似于二元配合物, 只需用 $Zn(ATP)^{2-}$ 代替 Zn^{2+} , 计算结果列于表 3 中.

对于同一配体 $N-het$, 三元配合物稳定性随着温度升高而降低, 但苯并咪唑和 3, 4- 二甲基吡啶的降低幅度比咪唑的大, 这可能归因于前二者配合物分子中存在着较强的分子内芳环间堆积作用.

2.4 二元配合物与三元配合物稳定性的比较

三元配合物相对于二元母体配合物的稳定性可通过测定下列平衡式(Ji et al, 1993)的位置来确定:



相关的平衡常数: