

# 稀土离子与氨基酸的相互作用

杨 频 杨斌盛

(山西大学分子科学研究所, 太原)

**关键词** 稀土离子、氨基酸、吸收光谱

钙(II)是生物体内重要的金属离子,它与蛋白质结合主要以静电结合为主,它会与蛋白质中的羧基、羟基、肽键及酚基等发生相互作用。由于在远紫外区才能观察到其电子跃迁这一实验上的困难,使得钙(II)-蛋白质结合的直接研究受到了很大的限制。稀土离子与钙(II)有极为相近的离子半径,它们的成键性质与钙(II)很相似,大都具有闭壳层的电子结构,主要通过静电相互作用与配体结合,且成键强度直接与离子半径有关系<sup>[1]</sup>。因此研究稀土离子与蛋白质的基本结构单元——氨基酸的相互作用,对于理解生物体系中钙(II)的成键性质是很有帮助的。为此我们利用紫外-可见光谱、红外光谱、核磁共振谱等观察了稀土离子与一些氨基酸的相互作用。同时我们还观察了其乙酸的作用。

## 一、材料和实验

**1. 仪器** PHS-73A 型酸度计,天津第二分析仪器厂产;UV-365 紫外-可见-近红外光谱仪,傅立叶变换 FX-60Q 核磁共振波谱仪,IR-435 红外光谱仪均为日本岛津产。

**2. 药品** L-丙氨酸、L-天门冬氨酸、L-谷氨酸、L-丝氨酸为生化试剂。其它试剂均为分析纯。

**3. 实验步骤** 将99.9%的稀土氧化物在110℃下恒温约2h,冷至室温后用分析天平精确称量,用稍过量的分析纯高氯酸溶解,配成标准溶液。将生化试剂级氨基酸在分析天平上准确称量后,直接溶于去离子水中备用。

在小烧杯中加入一定量的稀土高氯酸盐溶液和氨基酸溶液;用稀氢氧化钠和稀高氯酸调到所要求的pH值(用试纸测定),在电磁加热搅拌器上加热至微沸,冷却后稀释至约10ml,在酸度计上精确测定溶液的pH值,用同样酸度的水溶液稀释至10ml容量瓶中。对于钬(III)-天门冬氨酸(1:1的摩尔比)水溶液,在小烧杯中放置一周后析出白色透明固体。我们将固体络合物用重水溶解,使用TMS为内标,用5mm样品管,在谱宽为1000Hz的条件下测定了钬(III)-天门冬氨酸的质子核磁共振谱(如图1所示),图2是同样条件下天门冬氨酸的质子核磁共振谱。使用溴化钾压片法测得的钬(III)-天门冬氨酸红外光谱如图3所示。为了对比我们同时给出了天门冬氨酸的红外光谱。

紫外光谱的测定在UV-365紫外-可见-近红外光谱仪上进行,使用1cm吸收池,蒸馏水为空白。测定结果表明,在不同pH值下的稀土离子-氨基酸水溶液中,Ho<sup>3+</sup>的<sup>1</sup>I<sub>5</sub>→<sup>3</sup>G<sub>5</sub>和Nd<sup>3+</sup>的<sup>1</sup>I<sub>9/2</sub>→<sup>3</sup>G<sub>5/2</sub>,<sup>3</sup>G<sub>7/2</sub>跃迁<sup>[2]</sup>吸收峰有明显的强度变化,Tm<sup>3+</sup>的<sup>3</sup>H<sub>5</sub>→<sup>3</sup>H<sub>4</sub>和Sm<sup>3+</sup>的

本文1987年5月9日收到,1987年11月13日收到修改稿。

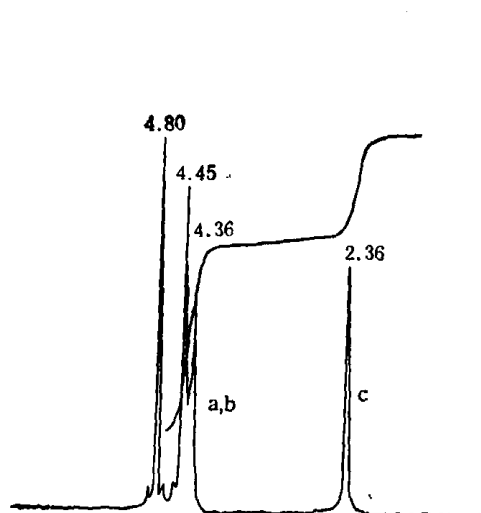


图1 铊(III)-天门冬氨酸的  $^1\text{H}$  NMR 谱

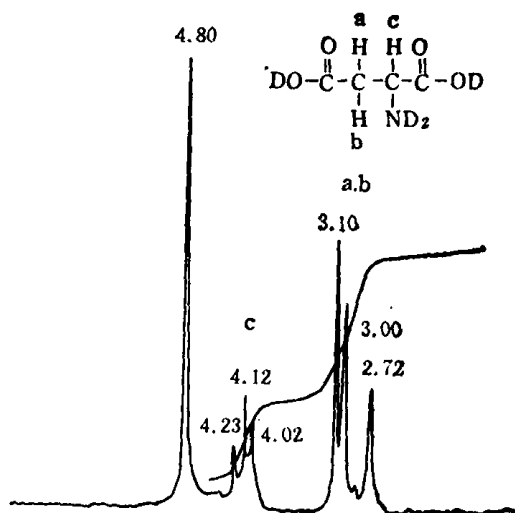


图2 天门冬氨酸的  $^1\text{H}$  NMR 谱

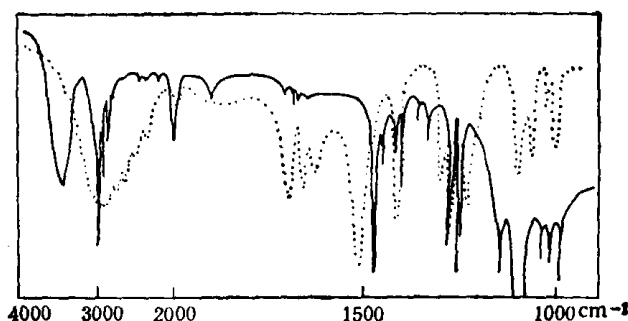


图3 铊(III)-天门冬氨酸(—)和天门冬氨酸(·····)的红外光谱

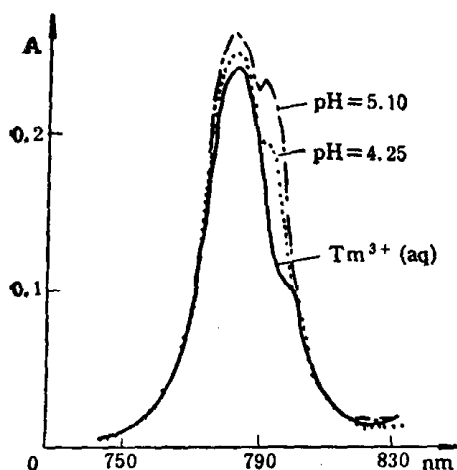


图4 天门冬氨酸- $\text{Tm}^{3+}$  吸收光谱

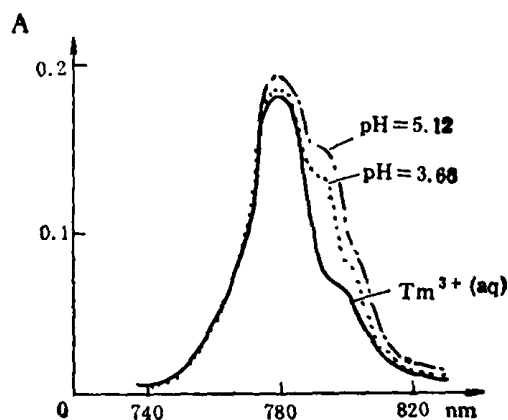


图5 谷氨酸- $\text{Tm}^{3+}$  吸收光谱

$^3\text{H}_{5/2} \rightarrow ^3\text{F}_4$  跃迁<sup>[2]</sup>吸收峰也有较明显的变化。图4和图5是  $\text{Tm}^{3+}$ -氨基酸的  $^3\text{H}_6 \rightarrow ^3\text{H}_4$  跃迁峰随 pH 值的变化而变化的情况。我们根据振子强度测定原理<sup>[3]</sup>, 利用(1)、(2)两式计算了不同的跃迁在不同 pH 值下的振子强度。

$$f_{nm} = 4.32 \times 10^{-9} \int_0^\infty \epsilon(\nu) d\nu, \quad (1)$$

$$f_{nm} = 4.32 \times 10^{-9} \times 1.065 \epsilon_{\max} \cdot \Delta\nu, \quad (2)$$

其中  $f$  为电子以  $\nu_m$  频率振动的有效振子数,  $\epsilon(\nu)$  为摩尔消光系数。

不同 pH 值下由不同的跃迁所算得的振子强度如表 1—5。

表 1  $\text{Ho}^{3+}$  的  $^1I_0 \rightarrow ^3G_4$ ,  $^1F_1$  跃迁随 pH 值的变化

| L-谷氨酸   |                 | L-天门冬氨酸   |                 | L-丙氨酸   |                 |
|---------|-----------------|-----------|-----------------|---------|-----------------|
| pH      | $f \times 10^4$ | pH        | $f \times 10^4$ | pH      | $f \times 10^4$ |
| <1(aq.) | 528.2           | <1(aq.)   | 568.6           | <1(aq.) | 574.4           |
| 1.23    | 554.1           | 4.90(aq.) | 567.1           | 1.12    | 574.4           |
| 2.47    | 578.5           | 2.44      | 617.8           | 2.82    | 601.0           |
| 3.20    | 652.5           | 2.96      | 649.2           | 4.26    | 617.1           |
| 4.40    | 679.4           | 3.98      | 669.5           | 5.38    | 627.9           |
| 5.01    | 716.7           | 4.92      | 681.5           |         |                 |

表 2  $\text{Tm}^{3+}$  的  $^1H_6 \rightarrow ^3H_4$  跃迁随 pH 值的变化

| L-天门冬氨酸 |                 | L-谷氨酸   |                 |
|---------|-----------------|---------|-----------------|
| pH      | $f \times 10^4$ | pH      | $f \times 10^4$ |
| <1(aq.) | 196.4           | <1(aq.) | 202.3           |
| 2.30    | 218.9           | 1.52    | 202.3           |
| 3.00    | 209.6           | 2.88    | 221.9           |
| 3.66    | 220.7           | 3.66    | 234.4           |
| 4.25    | 228.2           | 4.04    | 238.3           |
| 5.04    | 233.8           | 4.50    | 246.5           |
| 5.10    | 240.9           | 5.12    | 268.8           |

表 3  $\text{Nd}^{3+}$  的  $^1I_{3/2} \rightarrow ^3G_{3/2}$ ,  $^3G_{7/2}$  跃迁随 pH 值的变化

| L-天门冬氨酸 |                 | L-谷氨酸   |                 |
|---------|-----------------|---------|-----------------|
| pH      | $f \times 10^4$ | pH      | $f \times 10^4$ |
| <1(aq.) | 765.7           | <1(aq.) | 917.5           |
| 1.87    | 785.2           | 1.90    | 947.3           |
| 2.42    | 834.4           | 2.42    | 976.9           |
| 2.85    | 858.7           | 2.94    | 1004.9          |
| 3.70    | 915.3           | 3.93    | 1030.6          |
| 4.34    | 939.9           | 4.73    | 1101.3          |
| 5.22    | 958.9           | 5.04    | 1156.9          |

表 4  $\text{Sm}^{3+}$  的  $^1H_{5/2} \rightarrow ^3F_{3/2}$  跃迁随 pH 值的变化

| L-天门冬氨酸 |                 | L-谷氨酸   |                 |
|---------|-----------------|---------|-----------------|
| pH      | $f \times 10^4$ | pH      | $f \times 10^4$ |
| <1(aq.) | 237.5           | <1(aq.) | 238             |
| 2.56    | 246.5           | 1.42    | 244.7           |
| 2.98    | 254             | 2.02    | 251.9           |
| 3.92    | 261.4           | 2.42    | 252.6           |
| 4.58    | 268.9           | 3.07    | 253.            |
| 5.12    | 272.7           | 4.46    | 274.3           |

表5  $\text{Ho}^{3+}$  的  $^1\text{I}_8 \rightarrow ^3\text{G}_6$  和  $\text{Nd}^{3+}$  的  $^1\text{I}_{9/2} \rightarrow ^3\text{G}_{7/2}$ ,  $^3\text{G}_{7/2}$  跃迁随 pH 值的变化

| 钬(III)-丝氨酸 |                 | 钬(III)-乙酸 |                 | 钕(III)-乙酸 |                 |
|------------|-----------------|-----------|-----------------|-----------|-----------------|
| pH         | $f \times 10^3$ | pH        | $f \times 10^3$ | pH        | $f \times 10^3$ |
| <1(aq.)    | 591.1           | <1(aq.)   | 581.5           | <1(aq.)   | 690.3           |
|            |                 | 1.03      | 574.4           | 1.86      | 693.5           |
|            |                 | 1.36      | 574.4           | 2.98      | 710.2           |
|            |                 | 3.60      | 607.8           | 4.75      | 748.2           |
| 4.86       | 653.2           | 5.13      | 694.6           | 5.20      | 836.6           |

aq. 表示稀土高氯酸盐的水溶液。

## 二、结果及讨论

图3给出的红外光谱表明, L-天门冬氨酸与钬(III)作用后, 原来出现在  $3300\text{--}2500\text{ cm}^{-1}$  处的  $\gamma_{\text{OH}(\text{COOH})}$  和  $\gamma_{\text{NH}(\text{NH}_3^+)}$  吸收带变为几个尖峰, 出现在  $1530\text{--}1500\text{ cm}^{-1}$  处的  $\gamma_{\text{C}=\alpha\text{COOH}}$  吸收带红移为  $1490\text{--}1470\text{ cm}^{-1}$ , 同时在  $1100\text{ cm}^{-1}$  附近出现一个强的吸收带。钬(III)与氨基酸配位后会使  $\gamma_{\text{C}=\text{O}}$  红移, 使得  $\gamma_{\text{OH}}$  消失,  $1100\text{ cm}^{-1}$  处的吸收带是由于高氯酸根产生的。图2的天门冬氨酸  $^1\text{H}$  NMR 谱表明, 钬(III)使天门冬氨酸的  $\beta$  质子向低场移动约  $1.3\text{ ppm}$ , 使  $\alpha$  质子由低场向高场移动约  $1.5\text{ ppm}$ , 这可能是由于天门冬氨酸  $\alpha$ ,  $\beta$  羧基同时向钬(III)配位引起的<sup>[4]</sup>。

由图4、图5的吸收光谱可以看出, 加入氨基酸后虽然没有吸收峰的位移, 但稀土离子的某些吸收峰 ( $\Delta L \leq 2, \Delta S = 0$ ) 强度随 pH 值的增加而变强, 如  $\text{Ho}^{3+}$  的  $^1\text{I}_8 \rightarrow ^3\text{G}_6$ ,  $\text{Nd}^{3+}$  的  $^1\text{I}_{9/2} \rightarrow ^3\text{G}_{7/2}$ ,  $^3\text{G}_{7/2}$ ,  $\text{Tm}^{3+}$  的  $^3\text{H}_6 \rightarrow ^3\text{H}_4$  和  $\text{Sm}^{3+}$  的  $^6\text{H}_{5/2} \rightarrow ^6\text{F}_{7/2}$  跃迁吸收峰便是这样。这说明随着 pH 值的增加, 稀土离子逐渐与氨基酸形成了络合物。

由氨基酸的酸性解离常数<sup>[5]</sup>可知, 在我们的实验条件下 ( $\text{pH} \leq 6$ ), 各种氨基酸的  $\alpha\text{-NH}_2$  都以质子化的形式存在。稀土离子主要通过静电相互作用与配体成键的性质使质子化的  $\alpha\text{-NH}_2$  不会参与向稀土离子的配位。所以由没有氨基酸等配体存在时 pH 值的变化对稀土离子的吸收峰强度没有明显的影响可以看出, 表1—5所列数据的变化主要是稀土离子与羧基结合的结果。

由表1和表5可以看出, 当天门冬氨酸的  $\alpha$ -羧基与  $\text{Ho}^{3+}$  配位后 ( $\text{pH} = 2.44$ ),  $\text{Ho}^{3+}$  的  $^1\text{I}_8 \rightarrow ^3\text{G}_6$  跃迁振子强度的变化  $\Delta f$  是 49.2; 当  $\beta$ -羧基也向其配位后 ( $\text{pH} = 3.98$ ),  $\Delta f$  是 100.9, 即  $\alpha$ -羧基配位与  $\beta$ -羧基配位所引起的振子强度变化大致相同。与天门冬氨酸相似, 当谷氨酸的  $\alpha$ -羧基向  $\text{Ho}^{3+}$  配位后 ( $\text{pH} = 2.47$ ),  $^1\text{I}_8 \rightarrow ^3\text{G}_6$  跃迁振子强度变化  $\Delta f$  是 50.3; 但当  $\omega$ -羧基也向基配位后 ( $\text{pH} = 4.40$ ),  $\Delta f$  成为 151.2, 即  $\omega$ -羧基配位所引起的振子强度变化约是  $\alpha$ -羧基的两倍。在  $\text{Ho}^{3+}$ -丙氨酸水溶液中, 即使 pH 值高达 5.8 (仍只有  $\alpha$ -羧基配位),  $\Delta f$  也只是 53.5, 而乙酸配位 ( $\text{pH} = 5.13$ ) 所引起的振子强度变化  $\Delta f$  是 109.5。

由表2可看出,  $\text{Tm}^{3+}$  与天门冬氨酸、谷氨酸结合时,  $\Delta f$  的变化规律与  $\text{Ho}^{3+}$  相类似。

由表3和表5看出,  $\text{Nd}^{3+}$ -氨基酸中  $\text{Nd}^{3+}$  的  $^1\text{I}_{9/2} \rightarrow ^3\text{G}_{7/2}$ ,  $^3\text{G}_{7/2}$  跃迁振子强度变化与  $\text{Ho}^{3+}$ 、 $\text{Tm}^{3+}$  稍有不同。当天门冬氨酸的  $\alpha$ -羧基与  $\text{Nd}^{3+}$  配位后 ( $\text{pH} = 2.42$ ),  $\Delta f$  是 68.7; 当  $\beta$ -羧基也向  $\text{Nd}^{3+}$  配位后 ( $\text{pH} = 4.34$ ),  $\Delta f$  是 174.2, 即  $\beta$ -羧基配位所引起的振子强度变化约是  $\alpha$ -羧基的两倍, 这是与  $\text{Ho}^{3+}$ 、 $\text{Tm}^{3+}$  不同的。在  $\text{Nd}^{3+}$ -谷氨酸水溶液中,  $\omega$ -羧基

配位所引起的振子强度变化约为  $\alpha$ -羧基的两倍,这是与  $\text{Ho}^{3+}$ 、 $\text{Tm}^{3+}$  相一致的。乙酸向  $\text{Nd}^{3+}$  的配位 ( $\text{pH} = 5.2$ ) 所引起的振子强度变化约为 146.1。

由表 4 可以看出,  $\text{Sm}^{3+}$  与天门冬氨酸、谷氨酸作用后的振子强度变化规律与  $\text{Nd}^{3+}$  相似。

分析上述结果可以看出: 天门冬氨酸与稀土离子结合时,  $\alpha$ -羧基以一个氧原子向稀土离子配位,  $\beta$ -羧基与轻稀土(如  $\text{Nd}^{3+}$ 、 $\text{Sm}^{3+}$ ) 以两个氧原子配位, 有一  $\text{C} \begin{smallmatrix} \diagup \text{O} \\ \diagdown \text{O} \end{smallmatrix} \text{Ln}^{3+}$  四元环的形成, 与重稀土(如  $\text{Ho}^{3+}$ 、 $\text{Tm}^{3+}$ ) 以一个氧原子配位。谷氨酸与稀土离子结合时,  $\alpha$ -羧基以一个氧原子配位,  $\omega$ -羧基象乙酸与稀土离子结合时一样使用两个氧原子形成较稳定的  $\text{C} \begin{smallmatrix} \diagup \text{O} \\ \diagdown \text{O} \end{smallmatrix} \text{Ln}^{3+}$  四元环。这一结果是与 Legendziewicz 等人<sup>[6]</sup> 关于  $\text{Ho}^{3+}$ 、 $\text{Nd}^{3+}$  与谷氨酸的作用结果相一致的。

天门冬氨酸、谷氨酸与稀土离子成键的差异问题, 荧光光谱测定表明<sup>[7]</sup>, 谷氨酸与稀土离子形成二聚体, 而天门冬氨酸与稀土离子形成螯合物<sup>[8]</sup>, 这是两者的几何差别。我们认为构成其结合差别的主要原因是质子化的  $\alpha\text{-NH}_2$ ,  $\alpha$ -羧基距质子化的  $\alpha\text{-NH}_2$  较近, 易受到影响, 使得  $\alpha$ -羧基不象普通的羧基(乙酸), 只能以一个氧向稀土离子配位; 谷氨酸的  $\omega$ -羧基距质子化的  $\alpha\text{-NH}_2$  较远, 使其与稀土离子配位的能力接近于普通的羧基(乙酸), 在稀土离子半径变化的范围内,  $\text{C} \begin{smallmatrix} \diagup \text{O} \\ \diagdown \text{O} \end{smallmatrix} \text{Ln}^{3+}$  四元环的稳定性不受质子化  $\alpha\text{-NH}_2$  的影响。天门冬氨酸的  $\beta$ -

羧基与质子化的  $\alpha\text{-NH}_2$  距离介于  $\alpha$ -羧基和谷氨酸的  $\omega$ -羧基之间, 这时  $\text{C} \begin{smallmatrix} \diagup \text{O} \\ \diagdown \text{O} \end{smallmatrix} \text{Ln}^{3+}$  四元环的稳定性主要与稀土离子的半径有关, 即受稀土离子电荷密度的影响, 对于低电荷密度的轻稀土可形成较稳定的  $\text{C} \begin{smallmatrix} \diagup \text{O} \\ \diagdown \text{O} \end{smallmatrix} \text{Ln}^{3+}$  四元环, 对于高电荷密度的重稀土只能结合成  $\text{O}=\text{C}-\text{O}-\text{Ln}^{3+}$ 。

## 参 考 文 献

- [1] Brittain, H. G. et al., *J. Am. Chem. Soc.*, 98(1976), 8255.
- [2] Carnall, W. T. et al., *J. Chem. Phys.*, 49(1968), 4424.
- [3] 徐光宪、黎乐民, 量子化学基本原理和从头算法, 上册, 科学出版社, 1980.
- [4] Maryvonne, L. M. and Gerard, J. M., *Practical NMR Spectroscopy*, London, 1980, 377—390.
- [5] Ochiai, E., *Bioinorganic Chemistry An Introduction*, Allyn, 1977, 18.
- [6] Legendziewicz, J. et al., *Inorg. Nucl. Chem. Letters*, 17(1981), 57.
- [7] Legendziewicz, J. et al., *J. Luntin*, 24/25(1981), 819.
- [8] Webb, G. A., *Annual Reports on NMR Spectroscopy*, Vol. J, Academic Press, New York, 1979, 87.