

# L-苏氨酸二元和三元配合物的 pH 电位法研究

徐息良 黄仲贤\*

(复旦大学化学系, 上海)

本文报道了 L-苏氨酸同 Cu(II), Zn(II), Fe(II), Mn(II), Ca(II), Mg(II), Ni(II), Cd(II) 的二元及三元配合物的 pH 电位法研究. 电位滴定数据是使用 MINQUAD 和 ESTA 计算机程序处理的. 在每个体系中确定了最佳配合物粒子模型, 并测定了在生理条件下(温度为  $37 \pm 0.1$ , °C 离子强度为  $150 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3} \text{NaCl}$ ) 的稳定常数. 结果表明在铜配合物中 Cu·Thr·His 混配配合物是与  $\text{Cu}(\text{His})_2$  同样重要的配合物, 因此需要重新计算在血浆中铜在这些配合物中的分布. 虽然苏氨酸可以看作是三齿配位体, 但本工作的结果并无证据支持羟基参与配位. 然而在 Cd·Thr·His 体系中, Cd·Thr·His 同它的 1:2 母体二元配合物相比表现了显著的稳定性, 这可能显示了不同的配位状况. 但这一点有待于进一步证实.

生物体内存在的各种生命必需金属元素和体内各种氨基酸所形成的各种配合物, 在金属元素传输和发挥生物功能的过程中起着极为重要的作用<sup>[1,2]</sup>.

金属离子在生物体内是处于各种生物配位体相互竞争的极复杂配位平衡体系中, 金属离子在各种配位体间的分配, 体系中各配位粒子的平衡浓度和百分含量的计算首先是由 Perrin 开始的<sup>[3]</sup>. 随着高速大容量计算机的发展和生理条件下配合物稳定常数的不断积累, 生物体系的模拟计算有了较快的进步.

苏氨酸(Thr)与铜、锌的配合物曾被研究过<sup>[4~6]</sup>, 但结果比较分散且不完整. 它可属于三齿配位体, 其分子中羟基是否参与配位文献上较分歧. 为此我们研究了苏氨酸同生命必需金属元素的二元和三元配合物.

Bjerrum 的生成函数  $\bar{n}$  方法求得的是表观稳定常数. 它只考虑了简单的配合物, 所求得的稳定常数也不够精确. 对于三元配合物等复杂体系, 它就更无能为力了. 运用大型计算机计算程序比较和选择了各种化学模型, 并对各配合物稳定常数作非线性最小二乘方的精确化运算, 使人们有可能确定各体系配合物组成和精确的配合物稳定常数, 并计算出在不同条件下各配位离子的分布图. 本文报道了苏氨酸与生命金属元素配合物的研究结果.

## 实 验

**试剂** L-苏氨酸, L-组氨酸均为层析纯, 中国科学院上海生物化学研究所出品. 在水-乙醇中重结晶. 化合物经元素分析确证它的纯度. NaOH 溶液经  $\text{BaCl}_2$  除去碳酸根后配制. 加入一定量 NaCl 以维持在滴定过程中的离子强度, 浓度用邻苯二甲酸氢钾标定. 除二价铁盐外所有金属盐溶液都用氯化物配制. 铁盐溶液用硫酸亚铁新鲜配制, 并用 KCNS 检验三价

1985 年 5 月 13 日收到.

铁离子。各金属盐溶液加入一定量 HCl 和 NaCl, 以防止水解和维持一定的离子强度。浓度标定如前述<sup>[7]</sup>。金属盐溶液中游离酸浓度用 Gran Plot 电位滴定法测定<sup>[8]</sup>。

仪器 指示电极为 Russell pH Ltd. SW 757 型玻璃电极, 参比电极为 Russell pH Ltd. CR 型饱和氯化钠甘汞电极, 电位测量使用 PXS-215 离子活度计(上海第二分析仪器厂)。电位读数精度为 0.1 mV。使用 3 mL 容量的半微量碱式滴定管, 在纯氮气氛下进行。

电极行为标定 电极行为标定是通过强酸强碱的电位滴定, 利用 MAGEC 计算机程序<sup>[9]</sup>进行的。

电位滴定及计算 二元配合物体系中, 电位滴定在配位体和金属离子不同的浓度以及 1:1, 2:1, 3:1 和 4:1 等不同的浓度比范围内进行。在三元配合物中取 1:1:1, 2:1:1, 1:2:1, 2:2:1 和 3:1:1 的浓度比。金属盐溶液的浓度在 5~20 mmol·dm<sup>-3</sup> 之间, 配位体浓度为 5~40 mmol·dm<sup>-3</sup>。电位滴定数据用 MINIUAD<sup>[10]</sup> 计算机程序在 HONEYWELL DPS-8 计算机上处理。

不同的化学模型, 实验数据与理论计算结果之间有差异, 按照误差理论, 它们的残差平方和愈小, 模型愈佳。在比较两个化学模型时可以看到, 在一个体系中引入实际上并不存在的配位离子时, 系统误差明显增大。因此, 残差平方和, 标准偏差及统计  $R$  因子三个参数作为模型选择的主要判据<sup>[11]</sup>。应用 ESTA 程序<sup>[12]</sup> 可算得在配位平衡中各配合物的平衡浓度以及它们随着酸度和总浓度变化时各配位离子的分布图。

## 结果与讨论

苏氨酸的质子结合常数以及它与生命金属元素二元配合物稳定常数如表 1。

表 1 苏氨酸质子结合常数及二元配合物稳定常数

温度  $37 \pm 0.1^\circ\text{C}$   $I = 150 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3} \text{ NaCl}$

体 系	$p$	$q$	$r$	$\lg \beta_{pqr}$	标准误差	残差平方和	$R$ 因子	实验点
Thr-H	1	0	1	8.422	0.011	$5.796 \times 10^{-6}$	0.011	190
	1	0	2	10.632	0.013			
Thr-Mg-H	2	1	0	3.310	0.076	$7.070 \times 10^{-7}$	0.006	127
	3	1	0	5.363	0.075			
Thr-Ca-H	2	1	-1	-5.859	0.036	$8.768 \times 10^{-7}$	0.008	140
	3	1	0	6.045	0.072			
Thr-Cu-H	1	1	1	11.252	0.044	$6.489 \times 10^{-6}$	0.016	182
	1	1	-1	2.892	0.084			
	2	1	0	13.871	0.077			
Thr-Zn-H	1	1	0	4.523	0.017	$1.273 \times 10^{-6}$	0.006	243
	1	1	1	10.134	0.033			
	1	1	-1	-2.928	0.023			
	2	1	0	7.890	0.029			
Thr-Mn-H	1	1	0	2.340	0.029	$9.697 \times 10^{-7}$	0.004	290
	1	1	1	9.916	0.064			
	2	1	0	4.936	0.018			
Thr-Fe <sup>2+</sup> -H	1	1	1	12.443	0.040	$9.959 \times 10^{-7}$	0.006	124
	1	1	2	15.104	0.040			
Thr-Ni-H	1	1	0	4.918	0.012	$1.910 \times 10^{-6}$	0.006	341
	2	1	0	9.087	0.012			
Thr-Cd-H	1	1	0	3.535	0.028	$1.143 \times 10^{-6}$	0.005	344
	1	1	1	10.471	0.057			
	1	1	2	13.153	0.039			
	2	1	0	5.919	0.025			

表中  $\beta_{pqr} = [M_p L_q H_r] / [M]^p [L]^q [H]^r$ ,  $M$  为金属离子,  $L$  为配位体,  $H$  为质子。如果  $r$  为负值, 则代表羟基阴离子。

Martin 曾报道铜-苏氨酸二元体系中存在  $\text{Cu} \cdot \text{Thr} \cdot \text{OH}$  和  $\text{Cu} \cdot \text{Thr} \cdot (\text{OH})_2^{-13}$ 。本工作也确证了前者的存在,但却无法包括  $\text{Cu} \cdot \text{Thr} \cdot (\text{OH})_2^-$ 。这与 Berthon 的结果是一致的<sup>[6]</sup>。在本模型中有  $\text{Cu} \cdot \text{Thr} \cdot \text{H}^{2+}$  质子配合物,这为 Pettit 等在低 pH 范围时的电位滴定所证实<sup>[5]</sup>。

锌-苏氨酸二元配合物体系中, Williams<sup>[4]</sup> 等认为有配位离子  $\text{Zn}(\text{Thr})_2^-$  的存在,但本工作却没有证实。取代的是  $\text{Zn}(\text{Thr})_2 \cdot (\text{OH})^-$  羟基配合物,与 Berthon 的结果<sup>[6]</sup> 相吻合。

苏氨酸的端羟基是否参与配位一直有很大争论。晶体结构的研究并不支持羟基中氧原子的配位<sup>[14]</sup>,但是某些溶液热力学的研究<sup>[15]</sup>表明,由于未解离羟基的氧原子微弱的配位,增强了配合物的稳定性。我们在比较丙氨酸<sup>[16]</sup>和苏氨酸同一系列过渡元素的稳定常数表明,苏氨酸配合物并不显示任何额外的稳定性。因此苏氨酸仍然是个两齿配位体。也许只有在足够高 pH 下,羟基上质子解离后该氧原子才参与配位<sup>[17]</sup>。

苏氨酸、组氨酸与若干过渡元素三元配合物的结果列于表 2。表中  $\beta_{pqrs} = [\text{L}_p\text{X}_q\text{M}_r\text{H}_s] / [\text{L}]^p[\text{X}]^q[\text{M}]^r[\text{H}]^s$ , 其中 L 为第一配位体, X 为第二配位体。

表 2 苏氨酸三元配合物的稳定常数

$37 \pm 0.1^\circ\text{C}$   $I=150 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3} \text{ NaCl}$

体 系	p	q	r	s	$\lg \beta_{pqrs}$	标准误差	残差平方和	B 因子	实验点
Thr-His-Cu-H	1	1	1	0	17.370	0.185	$4.360 \times 10^{-6}$	0.023	187
	1	1	1	1	22.099	0.089			
	1	1	1	-1	7.768	0.142			
Thr-His-Zn-H	1	1	1	0	10.696	0.050	$4.628 \times 10^{-6}$	0.010	326
	1	1	1	-1	1.832	0.040			
	1	2	1	0	14.661	0.090			
Thr-His-Fe <sup>2+</sup> -H	1	1	1	-1	3.446	0.162	$3.762 \times 10^{-6}$	0.011	176
Thr-His-Ni-H	1	1	1	0	12.904	0.031	$2.942 \times 10^{-6}$	0.006	291
	1	1	1	1	19.255	0.016			
Thr-His-Cd-H	1	1	1	0	13.024	0.031	$4.624 \times 10^{-6}$	0.038	265
	1	1	1	2	28.169	0.061			

由于 Thr-His-Cu 各混配配合物在人体血液中传输铜的重要性,曾引起不少研究者的兴趣。Williams 等<sup>[4~6]</sup>曾报道了  $\text{Cu} \cdot \text{Thr} \cdot \text{His}$  和  $\text{Cu} \cdot \text{Thr} \cdot \text{His} \cdot \text{H}^+$  两个不同配合物的存在。本工作的结果表明,除了这些配合物外尚有  $\text{Cu} \cdot \text{Thr} \cdot \text{His} \cdot \text{OH}^-$  的存在,这与 Berthon 和 Martin 的最近研究结果是一致的。

在 Thr-His-Zn 体系中,本文报道的化学模型与 Gergely<sup>[18]</sup>的不同,存在着  $\text{Zn} \cdot \text{Thr} \cdot (\text{His})_2^-$  配合物。Reddy<sup>[19]</sup>在研究铜与各种氨基酸混配配合物时曾证实了  $\text{CuL}_2\text{X}$  和  $\text{CuIX}_2$  混配配合物的存在,并指出即使在生理 pH 条件下也不能无视它们的存在。在 Thr-His-Zn 体系中,  $\text{Zn} \cdot \text{Thr} \cdot \text{His}$  比它的母体  $\text{Zn}(\text{His})_2$  的稳定性要差。Gengely 等把它归结为组氨酸的羧基与苏氨酸羟基在金属键合时的拮抗作用。我们认为氨基酸侧链对氨基的 Lewis 碱性的影响也是决定苏氨酸配合物稳定性的一个重要因素。表 3 中锌的混配配合物  $\text{Zn} \cdot \text{Ala} \cdot \text{His}$  要比  $\text{Zn} \cdot \text{Thr} \cdot \text{His}$  稳定得多<sup>[20]</sup>。与  $\text{Zn}(\text{His})_2$  比较,也并不呈现任何稳定性减弱的趋势。这是由于丙氨酸的胺基较之于苏氨酸的胺基是更强的 Lewis 碱的缘故。

苏氨酸、组氨酸与二价铁、镍、镉等过渡元素混配配合物的稳定常数尚未见报道。苏氨酸-组氨酸-镉混配配合物的特殊稳定性在表 4 中十分明显。表中  $\lg X$  为混配配合物的歧化常数,  $\Delta \lg K$  为混配配合物与母体 1:1 配合物稳定常数的差值,表征了 ML 或 MX 与第二个不同配位体配位的能力<sup>[16]</sup>。对于铜、锌、镍而言,混配配合物的生成都是有利的。对 Thr-His-Cd 这种倾向就显得十分强烈,与它的母体配合物  $\text{Cd}(\text{His})_2$  相比较,稳定常数要大三个对数单位。

表3 Thr-His-M<sup>2+</sup> 和 Ala-His-M<sup>2+</sup> 三元配合物的比较

体 系	p q r s	lg $\beta_{pqrs}$	体 系	p q r s	lg $\beta_{pqrs}$
Thr-His-Cu-H	1 1 1 0	17.370	Ala-His-Cu-H	1 1 1 0	16.879
	1 1 1 -1	7.768		1 1 1 -1	6.043
	1 1 1 1	22.099		1 1 1 0	12.772
Thr-His-Zn-H	1 1 1 0	10.696		1 1 1 -1	2.975
	1 1 1 -1	1.832	Ala-His-Zn-H	1 1 1 0	12.600
	1 2 1 0	14.661		2 1 1 0	14.509
Thr-His-Ni-H	1 1 1 0	12.904	Ala-His-Ni-H	1 1 1 0	8.165
	1 1 1 1	19.255		1 1 1 -1	-2.347
Thr-His-Cd-H	1 1 1 0	13.024			
	1 1 1 2	28.169			

表4 各种苏氨酸混配配合物的稳定性

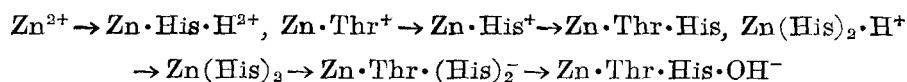
体 系	lg $\beta_{1010}$	lg $\beta_{2010}$	lg $\beta_{1110}$	lg X	$\Delta \lg K$
Thr-Cu	*7.789	13.871	17.370	1.685	-0.219
His-Cu	9.80	17.50			
Thr-Zn	4.523	7.890	10.696	0.952	-0.163
His-Zn	8.386	11.599			
Thr-Ni	4.918	9.087	12.904	0.931	-0.329
His-Ni	8.315	14.860			
Thr-Cd	3.535	5.919	13.024	5.235	4.099
His-Cd	5.39	9.66			

\* From Ref. [7] § From Chem. Rev., 1974, 74, 471.

很可能由于镉处于第二长周期中,它生成混配配合物时,配位数由四变为六,此时组氨酸与苏氨酸都成为三齿配位体。当然,这一点还有待于固体配合物的证实。

苏氨酸、组氨酸与不同金属离子组成的复杂体系中,各配位离子在不同 pH 时分布情况见图 1~4。

Thr-His-Cu 体系中,随着 pH 逐步升高,溶液中配位离子是以这样的次序生成的:



在 pH 6~9 范围内,溶液中起决定作用的混配配合物是  $\text{Zn} \cdot \text{Thr} \cdot (\text{His})_2^-$ 。

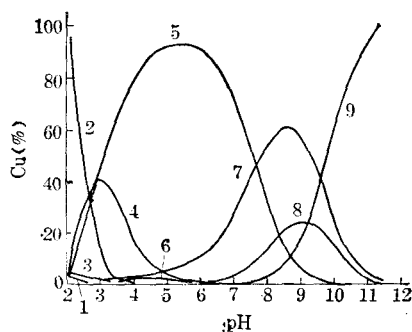


图1 Thr-His-Cu 体系配位离子分布图

1—Cu<sup>2+</sup>; 2—Cu·Thr·H<sup>2+</sup>; 3—Cu·His·H<sup>2+</sup>;  
4—Cu·His·Thr·H<sup>+</sup>; 5—Cu(His)<sub>2</sub>·H<sup>+</sup>;  
6—Cu(Thr)<sub>2</sub>; 7—Cu·Thr·His; 8—Cu(His)<sub>2</sub>;  
9—Cu·Thr·His·OH<sup>-</sup>

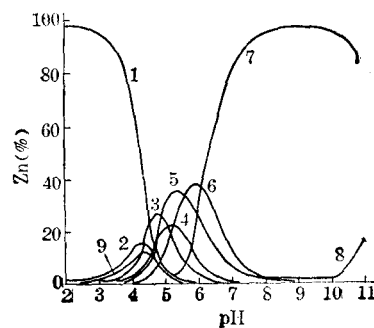


图2 Thr-His-Zn 体系配位离子分布图

1—Zn<sup>2+</sup>; 2—Zn·His·H<sup>2+</sup>; 3—Zn·His<sup>+</sup>;  
4—Zn(His)<sub>2</sub>·H<sup>+</sup>; 5—Zn·Thr·His;  
6—Zn(His)<sub>2</sub>; 7—Zn·Thr·(His)<sub>2</sub><sup>-</sup>;  
8—ZnThr·His·OH<sup>-</sup>; 9—Zn·Thr<sup>+</sup>

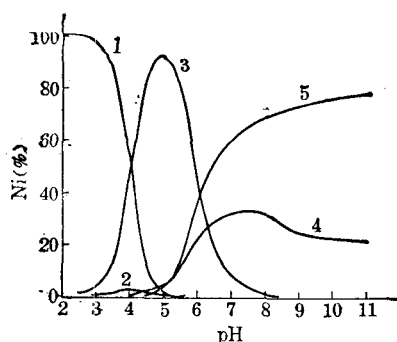


图3 Thr-His-Ni 体系配位离子分布图

1— $\text{Ni}^{2+}$ ; 2— $\text{Ni}\cdot\text{Thr}^+$ ; 3— $\text{Ni}\cdot\text{Thr}\cdot\text{His}\cdot\text{H}^+$ ;  
4— $\text{Ni}\cdot\text{Thr}\cdot\text{His}$ ; 5— $\text{Ni}(\text{His})_2$

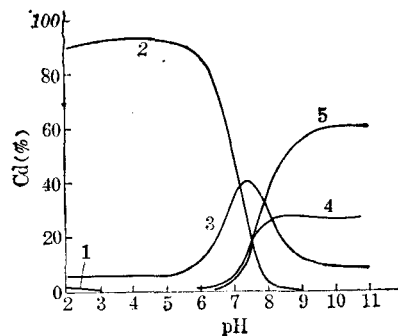


图4 Thr-His-Cd 体系配位离子分布图

1— $\text{Cd}^{2+}$ ; 2— $\text{Cd}\cdot\text{Thr}\cdot\text{His}\cdot\text{H}_2^+$ ; 3— $\text{Cd}\cdot\text{Thr}^+$ ;  
4— $\text{Cd}\cdot\text{Thr}\cdot\text{His}$ ; 5— $\text{Cd}(\text{Thr})_2$

在 Thr-His-Cu 体系中, pH 为 3~7 范围内溶液中主要以  $\text{Cu}\cdot(\text{His})_2\cdot\text{H}^+$  和  $\text{Cu}\cdot\text{Thr}\cdot\text{His}\cdot\text{H}^+$  这两种质子混配配合物存在。随着 pH 升高, 这些配合物开始解体,  $\text{Cu}\cdot\text{Thr}\cdot\text{His}$  取而代之成为主要配位粒子。在 pH 为 7.4 时,  $\text{Cu}\cdot(\text{His})_2\cdot\text{H}^+$  占总铜量 54%,  $\text{Cu}\cdot\text{Thr}\cdot\text{His}$  40%,  $\text{Cu}(\text{His})_2$  5.5%。与 Williams 结果<sup>[4]</sup>略有不同。

从配位离子分布图中可以看到, 在生理 pH 条件下金属离子在各体系中存在形式是不同的。例如  $\text{Cd}^{2+}$  离子主要以带正电的配位离子存在,  $\text{Ni}^{2+}$  主要以中性配合物存在,  $\text{Cu}^{2+}$  离子带正电的以及中性配合物各一半, 而  $\text{Zn}^{2+}$  主要是以带负电的配位离子存在。这为金属元素在体内的代谢过程提供了重要信息。因为中性的配合物比荷电的离子更易于透过生物体内的各种脂质膜, 而荷电的配位离子通过与体内的无机离子缔合易于从肾脏排出<sup>[1]</sup>。

本工作系中国科学院科学基金资助的课题。

### 参 考 文 献

- [1] Fiabane, A. M.; Williams, D. R., "The Principle of Bio-inorganic Chemistry", Earthro-lomaw Press, Dorking, 1977.
- [2] 黄仲贤, 自然杂志, 1983, 6(1), 26.
- [3] Perrin, D. D., *Nature*, (London), 1965, 206, 170.
- [4] Baxter, A. C.; Williams, D. R., *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1965, 1757.
- [5] Pettit, L. D.; Swash, J. L. M., *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1976, 2416.
- [6] Kayali, A.; Berthon, G., *Polyhedron*, 1982, 1, 371.
- [7] Huang, Z. X.; May, P. M.; Williams, D. R., *Inorg. Chim. Acta*, 1981, 51, 26.
- [8] Rossotti, F. J. C.; Rossotti, H., *J. Chem. Educ.*, 1965, 42, 375.
- [9] Linder, P. W.; Torrington, R. G.; Williams, D. R., "Analysis Using Glass Electrodes", Open University Press, Stony Straford, England, 1984.
- [10] Sabatini, A.; Vacca, A.; Gans, P., *Talanta*, 1974, 21, 53.
- [11] Vacca, A.; Sabatini, A.; Gristina, M. A., *Coord. Chem. Rev.*, 1972, 8, 45.
- [12] May, P. M.; Murray, K., 未发表。
- [13] Grenouillet, P.; Martin, R. B., *J. Biol. Chem.*, 1969, 244, 4832.
- [14] Heijing, G. J. M., *Talanta* 1975, 22, 923.
- [15] Letter, L. E.; Baumann, J. E., *J. Amer. Chem. Soc.*, 1970, 92, 437.
- [16] 黄仲贤, 徐息良, 高等学校化学学报, 待发表。
- [17] Захаров, A. B., *Хим. технol.*, 1983, 26, 151.
- [18] Gergely, A., *Inorg. Chim. Acta*, 1981, 56, L75.
- [19] Reddy, D., *Indian J. Chem., Sect. A*, 1981, 20A, 1083.
- [20] 黄仲贤, 生物化学与生物物理进展, 1985, (3), 21; 1985, (4), 23.

# Study on Binary and Ternary Complexes of *L*-Threonine by Potentiometric Titration

Xu Xi-Liang Huang Zhong-Xian\*

(Department of Chemistry, Fudan University, Shanghai)

## Abstract

A potentiometric study on binary and ternary complexes of *L*-threonine with Cu(II), Zn(II), Fe(II), Mn(II), Ca(II), Mg(II), Ni(II) and Cd(II) has been reported. Applying the computer program MINQUAT and ESTA to the titration data the best chemical species models have been chosen in each systems and stability constants at physiological conditions ( $37 \pm 1^\circ\text{C}$  and ionic strength  $I = 150 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3} \text{ NaCl}$ ) have also been determined. The results indicate that in the copper complexes the Cu·Thr·His mixed ligand complex is an important species comparable to  $\text{Cu}(\text{His})_2^-$  complex. It might be necessary to re-estimate the distribution between these copper complexes in the blood plasma simulation. Though the *L*-threonine could be regarded as tridentate ligand there is no evidence supporting the argument that the hydroxyl group of threonine takes part in the binding of the metal ions. However ternary complex Cd·Thr·His shows remarkable stability comparing with its 1:2 parent complexes in Cd·Thr·His system. It might imply different coordination situation but it still remains to be proved.