

## NMR 研究草酸双过氧钒配合物与精氨酸的相互作用

曾碧榕<sup>a</sup> 于贤勇<sup>a</sup> 蔡淑惠<sup>b</sup> 陈 忠<sup>\*, a, b</sup> 万惠霖<sup>a\*</sup>  
(<sup>a</sup> 厦门大学化学系固体表面物理化学国家重点实验室 <sup>b</sup> 物理系 厦门 361005)

**摘要** 应用多核(<sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, <sup>15</sup>N 和 <sup>51</sup>V) NMR、二维扩散排序谱(2D DOSY)、变温 NMR 以及电喷雾质谱(ES/MS)等谱学方法研究草酸双过氧钒配合物与精氨酸(Arg)的相互作用,发现该相互作用体系可生成以氨基配位的新过氧钒物种 [OV(O<sub>2</sub>)<sub>2</sub>Arg]<sup>-</sup>, 研究结果表明综合利用上述谱学方法有助于揭示此类相互作用体系的反应过程和配位机制。

**关键词** 过氧钒配合物, 精氨酸, 相互作用, 核磁共振, 二维扩散排序谱, 电喷雾质谱

## NMR Studies on Interactions between Oxalate-oxodiperoxovanadate and Arginine

ZENG, Bi-Rong<sup>a</sup> YU, Xian-Yong<sup>a</sup> CAI, Shu-Hui<sup>b</sup> CHEN, Zhong<sup>\*, a, b</sup> WAN, Hui-Lin<sup>a</sup>  
(<sup>a</sup> Department of Chemistry, State Key Laboratory for Physical Chemistry of Solid Surface,  
<sup>b</sup> Department of Physics, Xiamen University, Xiamen 361005)

**Abstract** Coordination interactions between oxalate-oxodiperoxovanadate { K<sub>3</sub>[VO(O<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(C<sub>2</sub>O<sub>4</sub>)] · H<sub>2</sub>O, abbr. bpV-(oxa) } and arginine (abbr. Arg) in solution were studied by 1D multinuclear (<sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, <sup>15</sup>N, and <sup>51</sup>V) NMR, 2D diffusion ordered spectroscopy (DOSY), variable temperature NMR, and electrospray ionization mass spectrometry (ESI/MS). Spectroscopic results indicated that a new peroxovanadate species [OV(O<sub>2</sub>)<sub>2</sub>Arg]<sup>-</sup> was formed in which Arg coordinates to vanadium through amino group. It is proved that these methods are useful for analyzing and characterizing the reaction processes and coordination modes in this kind of the interaction systems.

**Keywords** peroxovanadate, arginine, interaction, NMR, DOSY, ESI/MS

随着钒化合物具有显著类胰岛素作用的发现以及某些含钒金属酶晶体结构的报道,人们对钒化合物的研究热点逐渐从合成化学和工业催化方面转向生命科学领域<sup>[1,2]</sup>. 作为钒化合物家族中一员的过氧钒配合物具有很好的类胰岛素活性<sup>[3,4]</sup>. 作为蛋白质最小结构单元的氨基酸可与金属钒化合物以不同的方式配位,甚至同一氨基酸在不同的化学环境里其配位方式也不同,是用来研究与含钒化合物相互作用理想小分子,因此研究过氧钒配合物的化学性质以及与氨基酸相互作用的模式和机理<sup>[5~9]</sup>是揭示其生物活性机制的重要基础. 该领域的主要研究方法有核磁共振(NMR)<sup>[7~9]</sup>、电喷雾质谱(ESI/MS)<sup>[7~9]</sup>、拉曼光谱<sup>[10]</sup>和从头计算<sup>[11]</sup>等. Tracey 等<sup>[12]</sup>曾在 HEPES 缓冲液中采用 H<sub>2</sub>VO<sub>4</sub><sup>-</sup>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 或 HVO<sub>4</sub><sup>2-</sup>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 体系研究与氨基酸的相互作用. 该体系虽然在 pH 值、离子强度等因素满足生理条件,但是只能得到相互作用体系的<sup>51</sup>V NMR 谱和反应的平衡常数,无法得到其它的谱

学数据而确定以氨基酸为配体的过氧物种在溶液中的精细结构. 草酸双过氧钒酸钾 { K<sub>3</sub>[VO(O<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(C<sub>2</sub>O<sub>4</sub>)] · H<sub>2</sub>O, 简称 bpV(oxa) } 比较稳定,无<sup>1</sup>H 和<sup>15</sup>N NMR 谱峰,仅有 2 条<sup>13</sup>C NMR 谱峰. 这样在利用多核多维 NMR 研究其与氨基酸相互作用时,易于谱峰的归属和分析. 另外,精氨酸(简称 Arg)是机体内运输和贮存氮的重要载体,在排泄体内过量氮的代谢过程中起着重要作用. 它能刺激胰岛素、肾上腺素等激素的生成、迅速降低血糖和减少脂肪的生成<sup>[13]</sup>. Arg 除了含有一个羧基外,还含有多个—NH<sub>2</sub> 和 >NH 基团,这样就有多种可能的配位点与钒配位,为此本文选择 bpV(oxa) 与 Arg 相互作用体系为研究对象,利用多核(<sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, <sup>15</sup>N 和 <sup>51</sup>V) NMR 谱、二维扩散排序谱(DOSY)、变温 NMR 和电喷雾质谱(ESI/MS)等谱学方法研究以及检测其相互作用过程、物种的配位方式以及新物种的溶液结构.

\* E-mail: chenz @jingxian. xmu. edu. cn

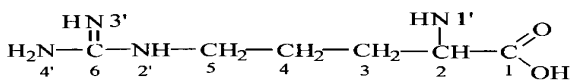
Received November 24, 2003; revised and accepted December 30, 2003.

国家自然科学基金(Nos. 10234070, 10005006, 10104011)和固体表面物理化学国家重点实验室资助项目.

## 1 实验部分

$V_2O_5$ , KOH, KCl,  $H_2O_2$ ,  $C_2H_5OH$ ,  $H_2C_2O_4$  等为上海试剂厂生产的分析纯试剂,未进一步纯化;Arg(见图式 1 所示)为上海康达氨基酸厂的生化试剂;重水为北京汉威士波谱公司产品;质谱实验用的  $C_2H_5OH$  先经镁屑处理,水为二次去离子水。

bpV(oxa)的制备:将 0.91 g  $V_2O_5$  和 1.95 g KOH 溶于 20 mL  $H_2O$  中,搅拌使之完全溶解,冰浴 15 min 后,依次加入 1.26 g 草酸(溶于 10 mL 水中)、20 mL  $H_2O_2$ ,继续在冰浴下搅拌 3 h,缓慢滴入无水乙醇至微浑浊产生,调溶液 pH 值为 5.0~6.0,过滤,滤液放置过夜,析出橙红色晶体<sup>[14]</sup>,并详细表征<sup>[15]</sup>。



图式 1 Arg 的结构式

Scheme 1 Structural formula of arginine

Varian Unity<sup>+</sup> 500 超导核磁共振仪和 Finnigan MAT LCQ 质谱仪的主要测试条件: $^1H$ 核共振频率为 500.4 MHz,  $^{13}C$ 核共振频率为 125.7 MHz,  $^{15}N$ 核共振频率为 50.7 MHz,  $^{51}V$ 核共振频率为 131.4 MHz,溶剂为 0.15 mol/L 的 KCl 重水溶液,常温实验中温度为 293 K.  $^1H$ 和  $^{13}C$ 化学位移以 DSS 为内标,  $^1H$  NMR 谱的脉冲宽度 5.0  $\mu s$ ,谱宽 10 kHz,采样时间 1.0 s,脉冲重复时间 2.0 s,累加 256 次,傅立叶变换数据点为 128 k;  $^{13}C$  NMR 谱的脉冲宽度 4.0  $\mu s$ ,谱宽取 40 kHz,采样时间 0.7 s,脉冲重复时间 2.0 s,累加 5000 次,采用 10 Hz 线性增宽因子进行傅立叶变换,傅立叶变换数据点为 128 k.  $^{15}N$ 化学位移以  $(C_2H_5)_4NCl$  饱和重水溶液为外标,脉冲宽度 4.0  $\mu s$ ,谱宽 100 kHz,采样时间 0.7 s,脉冲重复时间 2 s,累加 7000 次,傅立叶变换点数为 256 k,采用 10 Hz 增宽因子处理.  $^{51}V$ 化学位移以  $VOCl_3$  为外标,脉冲宽度 5.0  $\mu s$ ,谱宽 100 kHz,采样时间 0.5 s,脉冲重复时间 1.0 s,累加 256 次,傅立叶变换点数为 128 K,采用 10 Hz 增宽因子处理. 二维扩散排序谱采用的脉冲序列为 BPPSTE<sup>[16]</sup>,脉冲重复时间 4 s,采样时间 1.2 s,梯度场脉冲持续时间 2 ms,最大梯度场强度 30 G/cm,扩散延迟时间 400 ms,每次实验采用 18 组不同的梯度场强度,每个梯度场强度值累加 16 次,所用时间约 40 min. 质谱仪的主要测试条件和参数:负离子模式采样,溶剂为 1:1(体积比)的乙醇水溶液,壳气( $N_2$ ) 35 mL/min,辅助气( $N_2$ ) 5 mL/min,毛细管温度 175  $^{\circ}C$ ,放电电压 2.5 kV,喷雾电压 3.5 kV,毛细管电压 -4.0 kV,扫描范围  $m/z$ : 50~800,流动相流速 0.5 mL/min.

## 2 结果与讨论

### 2.1 $^{51}V$ NMR 检测 bpV(oxa) 与 Arg 相互作用过程

#### 2.1.1 不同摩尔比对相互作用体系的影响

在 KCl 重水溶液中观察 bpV(oxa) (0.2 mol/L) 与不同比例 Arg(摩尔比,下同)混合后溶液的  $^{51}V$  NMR 谱(在混合后 10 min 内采集),结果如图 1 所示.图 1(a)为底物 bpV(oxa)的  $^{51}V$  NMR 谱,化学位移 -692 和 -738 处的谱峰分别归属为  $[OV(O_2)_2(D_2O)]^-$  和 bpV(oxa)<sup>[17]</sup>.图 1(b)~(f)分别为 bpV(oxa)与 0.4~2.0 eq. Arg 相互作用后的  $^{51}V$  NMR 谱,由图 1(b)可见,加入 0.4 eq. Arg 后,物种  $[OV(O_2)_2(D_2O)]^-$  所对应的谱峰消失,同时在 -732, -758, -761 处出现新的谱峰,说明 bpV(oxa)与 Arg 有较强的相互作用, -732 处的谱峰归属为三过氧物种  $[OV(O_2)_3]^{3-}$ <sup>[17]</sup>, -758 处的宽峰归属为钒的二聚体  $[OV(O_2)_2]_2^{2-}$ <sup>[17]</sup>, -761 处的谱峰可归属为相互作用体系中新生成的过氧物种  $[OV(O_2)_2Arg]^-$ .图 1(c)~(f)说明往体系中不断加入 Arg,则 bpV(oxa)与之不断发生作用, -738 对应的谱峰面积逐渐变小,物种  $[OV(O_2)_2Arg]^-$  的量不断增加,而物种  $[OV(O_2)_3]^{3-}$  (-732)的量则经历一个由少到多再减少的过程,当 Arg/bpV(oxa)摩尔比大于 1 时, -738 处的谱峰基本消失。

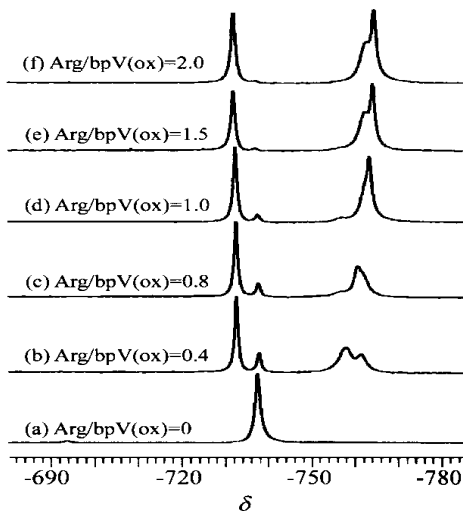


图 1 bpV(oxa)与不同摩尔 Arg 相互作用的  $^{51}V$  NMR 谱

Figure 1  $^{51}V$  NMR spectra of the interaction system between bpV(oxa) (0.2 mol/L) and Arg, (a)~(f) corresponding to the molar ratio of Arg/bpV(oxa) = 0, 0.4, 0.8, 1.0, 1.5 and 2.0, respectively

当 Arg/bpV(oxa)摩尔比按 0, 0.4, 0.8, 1.0, 1.5 和 2.0 递增时,相互作用体系的溶液由弱酸性变为弱碱性.由于钒化合物的化学位移随溶液 pH 值的变化而变化<sup>[18]</sup>,因此物种  $[OV(O_2)_2Arg]^-$  的谱峰逐渐从 -761 移到 -763 直至稳定

在  $-764$ ; 与此类似, 物种  $[\text{OV}(\text{O}_2)_2]_2^{2-}$  的谱峰也逐渐向高场偏移, 从  $-758$  移到  $-761$  直至稳定在  $-762$ , 期间经历了与  $[\text{OV}(\text{O}_2)_2\text{Arg}]^-$  的谱峰处完全重叠 ( $-761$ ) 至部分重叠的过程。

### 2.1.2 相互作用体系随时间的变化

为研究时间对相互作用体系的影响, 利用  $^{51}\text{V}$  NMR 谱在不同时间监测  $\text{bpV}(\text{oxa})$  ( $0.2 \text{ mol/L}$ ) 和 Arg 以 1:2 摩尔比混合后的 KCl 重水溶液, 我们发现随着时间的推移, 三过氧物种  $[\text{OV}(\text{O}_2)_3]^{3-}$  所对应的谱峰面积逐渐减小, 而物种  $[\text{OV}(\text{O}_2)_2]_2^{2-}$  和  $[\text{OV}(\text{O}_2)_2\text{Arg}]^-$  所对应的谱峰面积则逐渐增加. 在常温下混合 5 h 后,  $[\text{OV}(\text{O}_2)_3]^{3-}$  对应谱峰的强度减至非常微弱, 此时体系的主要组分为二聚体  $[\text{OV}(\text{O}_2)_2]_2^{2-}$  和物种  $[\text{OV}(\text{O}_2)_2\text{Arg}]^-$ , 其  $^{51}\text{V}$  谱峰的相对面积约为 1:1, 这意味只有约一半的 V 与 Arg 配位. 由于  $\text{bpV}(\text{oxa})$  和 Arg 是以 1:2 摩尔比混合的, 因此理论上与之相对应的  $^1\text{H}$  和  $^{13}\text{C}$  NMR 谱游离 Arg 与新配合物  $[\text{OV}(\text{O}_2)_2\text{Arg}]^-$  所对应谱峰的相对面积约为 3:1. 以下详述的  $^1\text{H}$  和  $^{13}\text{C}$  NMR 实验将证实上述的定量关系.

### 2.1.3 相互作用体系随温度的变化

由于温度对不同物种中钒核的屏蔽系数影响程度不尽相同<sup>[19]</sup>, 这导致它们化学位移的变化也不尽相同, 常温下相互重叠的 2 个谱峰随着温度的升高可能会逐渐分开, 因此我们仍以 1:2 摩尔比的  $\text{bpV}(\text{oxa})$  ( $0.2 \text{ mol/L}$ ) 和 Arg 相互作用体系为研究对象, 以探讨温度对体系的影响. 在体系混合 5 h 后作变温实验, 每次变温步长为  $10^\circ\text{C}$ , 温度到达设置值 20 min 后采样, 结果如图 2 所示. 由图 2 可得以下结论:

(1) 随着温度的升高, 室温下部分重叠且化学位移仅差 1.9 的  $[\text{OV}(\text{O}_2)_2]_2^{2-}$  物种和  $[\text{OV}(\text{O}_2)_2\text{Arg}]^-$  的谱峰逐渐分开, 在  $50^\circ\text{C}$  时它们的化学位移之差达 8.2; 当温度再次回落到  $20^\circ\text{C}$  时它们又部分重叠到一起;

(2) 随着温度的升高, 物种  $[\text{OV}(\text{O}_2)_2]_2^{2-}$  和  $[\text{OV}(\text{O}_2)_2\text{Arg}]^-$  的化学位移值也逐渐变大 (向低场移动), 这表明在升温过程中, 对钒核而言是个去屏蔽过程. 这与 Jameson 在简单的静电模型基础上利用量化计算得到  $^{51}\text{V}$  化学位移的温度系数与试验结果具有很好的相关性的结论相一致<sup>[19]</sup>;

(3) 在该体系中各谱峰的化学位移和相对面积只是温度的函数, 而与它们的生成路径无关;

(4) 在本文所述的变温条件下, 该体系是稳定的.

## 2.2 $^1\text{H}$ 和 $^{13}\text{C}$ NMR 谱的归属

为了研究  $\text{bpV}(\text{oxa})$  与 Arg 相互作用后所生成  $[\text{OV}(\text{O}_2)_2\text{Arg}]^-$  的配位方式, 本文分别测定了  $\text{bpV}(\text{oxa})$  与 Arg 混合前后体系的  $^1\text{H}$  和  $^{13}\text{C}$  NMR 谱. 在 1:2 摩尔比  $\text{bpV}(\text{oxa})$  ( $0.2$

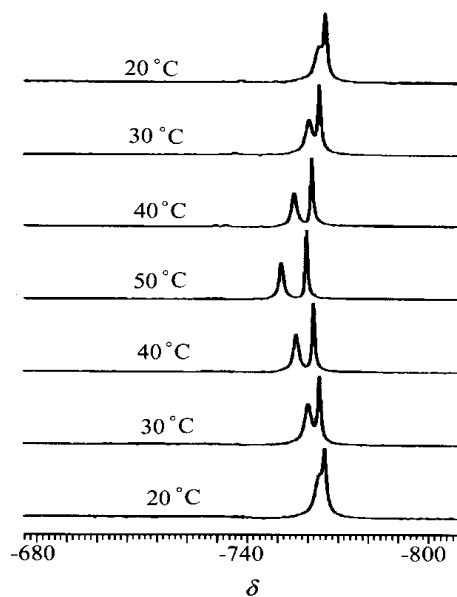


图 2  $\text{bpV}(\text{oxa})$  与 Arg 相互作用体系在不同温度下的  $^{51}\text{V}$  NMR 谱

自下而上先升温, 后降温

Figure 2  $^{51}\text{V}$  NMR spectra of the interaction system between  $\text{bpV}(\text{oxa})$  ( $0.2 \text{ mol/L}$ ) and Arg with 1:2 molar ratio at different temperatures

From bottom to top, the temperature increases, and then decreases

$\text{mol/L}$ ) 和 Arg (1:2) 在室温下混合 5 h 后,  $^1\text{H}$  和  $^{13}\text{C}$  NMR 谱分别如图 4 的上端和图 3 所示, 结合二维 COSY 谱将  $^1\text{H}$  和  $^{13}\text{C}$  NMR 谱峰归属列表 1. 从表 1 可以看出: 在  $3.71$ ,  $3.26$ ,  $1.97$  和  $1.81$  出现新的  $^1\text{H}$  NMR 谱峰, 说明  $\text{bpV}(\text{oxa})$  与 Arg 有较强的相互作用, 从而导致 Arg 上 H 的化学位移移向低场, 其变化的具体结果为: 2-H 的化学位移变化最大, 为  $0.29$ ; 其次为 3-H 和 4-H 的, 为  $0.27$  和  $0.17$ ; 而 5-H 的化学位移变化最小, 仅为  $0.06$ .  $^1\text{H}$  NMR 结果表明: 金属钒化合物可能与 Arg 的 2 位上的氨基 1-N 配位或羧基配位, 使得与之距离最近的 2-H 化学位移受到的影响最大, 最远的 5-H 受到的影响最小.

类似地, 该相互作用体系的  $^{13}\text{C}$  NMR 谱中也出现两组谱峰 (见图 3). 一组来自游离的 Arg, 一组来自配位的 Arg, 同时还有来自  $\text{bpV}(\text{oxa})$  被 Arg 取代后游离出来草酸根  $\text{oxa}^{2-}$  的谱峰  $175.9$ . 从图 3 的  $^{13}\text{C}$  NMR 谱可以看到, 配位的 Arg 之 1-C ~ 5-C 的化学位移相对游离的 Arg 相应碳的化学位移均有不同程度的偏移, 而 6-C 的则没有变化, 其中 1-C 和 2-C 的化学位移变化最大 (分别为  $1.1$  和  $2.3$ ), 3-C, 4-C, 5-C 的次之

表 1 相互作用体系中 Arg 和  $[\text{OV}(\text{O}_2)_2(\text{Arg})]^-$  的  $^1\text{H}$  和  $^{13}\text{C}$  NMR 数据  
Table 1  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR data of the interactions system between Arg and  $[\text{OV}(\text{O}_2)_2(\text{Arg})]^-$

Species	$(^1\text{H})$				$(^{13}\text{C})$					
	2-H	3-H	4-H	5-H	1-C	2-C	3-C	4-C	5-C	6-C
Arg	3.42	1.70	1.64	3.20	182.4	58.6	33.3	27.9	44.6	160.4
$[\text{OV}(\text{O}_2)_2(\text{Arg})]^-$	3.71	1.97	1.81	3.26	183.5	60.9	34.1	28.4	44.8	160.4

( 分别为 0.8, 0.5, 0.2 ), 说明了双过氧钒可能与 Arg 之 2 位上的氨基 1-N 配位或羧基配位, 使得与之较近的 1-C 和 2-C 受到的影响最大, 而离得较远的 4-C 和 5-C 影响较小. 这些结果与从  $^1\text{H}$  NMR 谱得到的结论一致.

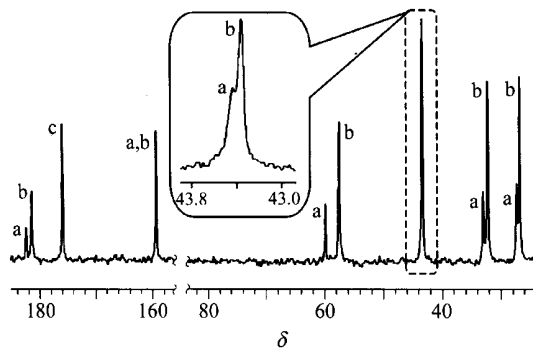


图 3 bpV(oxa) 与 Arg 相互作用后的  $^{13}\text{C}$  NMR 谱

a—归属为配位 Arg 的峰; b—游离 Arg 的峰; c—游离  $\text{oxa}^{2-}$  的峰

Figure 3  $^{13}\text{C}$  NMR spectrum of the mixture of bpV(oxa) (0.2 mol/L) and Arg (1:2 molar ratio)

a—Peaks of coordinated Arg; b—peaks of free Arg; c—peaks of free oxalate

### 2.3 DOSY 谱

分子在溶液中的扩散速度与分子的大小和结构密切相关, 而同一分子不同基团的自扩散系数则基本相同. 由于配位与游离 Arg 的分子大小和结构有明显的差别, 因此可以采用二维扩散排序方法对 bpV(oxa) 与 Arg 混合物中配位与游离的 Arg 组分依据扩散系数的不同进行“虚”分离. 在 2D DOSY 谱中,  $F_2$  维 ( $x$  轴) 对应于化学位移,  $F_1$  维 ( $y$  轴) 对应于自扩散系数. 本文采用 BPPSTE 方法<sup>[16]</sup> 获得图 4 所示的 bpV(oxa) 和 Arg 以 1:2 比例混合后体系的二维  $^1\text{H}$  DOSY 谱. 从图 4 沿着  $F_1$  维方向可以明显观察到体系的  $^1\text{H}$  NMR 信号“虚”分离为三种组分: (a) 组分的自扩散系数最大, 为分子量最小的溶剂 HOD 的谱峰 (用实线标出); (b) 组分的自扩散系数较小, 为分子量较小的游离 Arg (用点划线标出); (c) 组分自扩散系数最小, 归属于新物种  $[\text{OV}(\text{O}_2)_2(\text{Arg})]^-$  (用虚线标出). 对于每一组分, 沿着  $F_2$  维方向, 也可以观察到体系中 Arg 和  $[\text{OV}(\text{O}_2)_2(\text{Arg})]^-$  的  $^1\text{H}$  NMR 信号和表 1 完全一致. 可见从 2D DOSY 中得到的信息支持了普通  $^1\text{H}$  NMR 实验所得结论, 同时还具有直观和简洁等特点.

### 2.4 ESFMS 谱

在负离子模式下测量浓度为  $1 \times 10^{-2}$  mol/L 的 bpV(oxa) 乙醇水溶液 ( $V_{\text{乙醇}}/V_{\text{水}} = 1/1$ , 下同) 的 ESFMS 谱, 观察到处于不同配位环境的含钒物种:  $[\text{O}_3\text{V}(\text{H}_2\text{O})]^-$  ( $m/z$  101, 4%),  $[\text{O}_3\text{V}(\text{H}_2\text{O})]^-$  ( $m/z$  117, 100%),  $[\text{OV}(\text{O}_2)_2]^-$  ( $m/z$  131, 80%),  $[\text{O}_3\text{V}(\text{EtOH})]^-$  ( $m/z$  145, 70%),  $[\text{OV}(\text{O}_2)_2(\text{EtOH})]^-$  ( $m/z$  177, 29%),  $[\text{OV}(\text{O}_2)(\text{oxa})]^-$  以及  $[\text{H}(\text{O}_3\text{V})\text{OV}(\text{O}_2)_2]^-$  ( $m/z$  233, 11%) 等; 此外, 还有  $[\text{HC}_2\text{O}_4]^-$  ( $m/z$  89, 87%) 的谱峰. 因此, 在 ESFMS 谱中, 含钒物种存

在和溶剂分子发生配位的现象<sup>[20]</sup>.

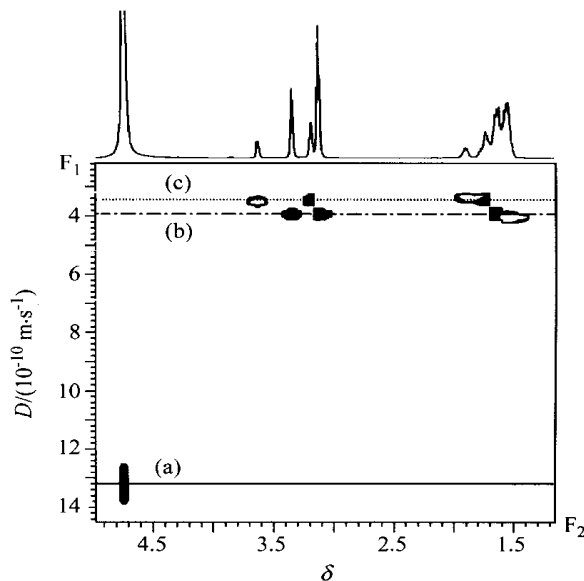


图 4 bpV(oxa) 和 Arg 在  $\text{D}_2\text{O}$  溶液中的 DOSY 谱

Figure 4 DOSY spectrum of bpV(oxa) (0.2 mol/L) and Arg with 1:2 molar ratio in  $\text{D}_2\text{O}$  solution

为得到相互作用体系中过氧钒物种溶液结构的直接信息, 在上述溶液中分别加入 1, 2 及 3 eq. 的 Arg, 在体系的 ESFMS 谱图中都观察到物种  $[\text{OV}(\text{O}_2)_2\text{Arg}]^-$  ( $m/z$  305) 的谱峰, 其强度分别为 2%, 8% 和 15% (在 ESFMS 谱中也相应地多了由 Arg 产生的谱峰. 可见随着 Arg 摩尔数的增加, 物种  $[\text{OV}(\text{O}_2)_2\text{Arg}]^-$  的含量相应也增加, 此结果支持了由多核 NMR 谱所得的结论.

### 2.5 $^{15}\text{N}$ NMR 谱

由于氨基酸与金属钒随着溶液的化学环境不同可以有不同的方式配位, 因此以氨基酸为配体的过氧钒配合物溶液结构一直是此类体系的研究重点和难点之一. 虽然  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  和  $^{51}\text{V}$  NMR 及 ESFMS 的实验结果都表明在相互作用过程中生成新的过氧物种  $[\text{OV}(\text{O}_2)_2\text{Arg}]^-$ , 但却缺少强有力的证据来判断该物种中 Arg 具体以何种方式与 V 进行配位. 采用  $^{15}\text{N}$  NMR 谱可望得到 bpV(oxa) 与 Arg 相互作用后溶液结构的最直接信息. 图 5 为 bpV(oxa) 与 Arg 相互作用前后的  $^{15}\text{N}$  NMR 谱. 图 5(a) 为 Arg 的  $^{15}\text{N}$  NMR 谱, 化学位移 86 和 72 的谱峰分别归属于胍基上的 2-N 及其 3-N 和 4-N, 这两个峰面积的比例为 1:2; 而 2 位上氨基 1-N 的化学位移则在 33 处. 图 5(b) 为相互作用体系的  $^{15}\text{N}$  NMR 谱. 比较图 5(a) 和 5(b), 可以发现相互作用后 2-N, 3-N 和 4-N 谱峰的位置和相对面积基本不变, 但 1-N 谱峰向低场移动 2, 其相对面积约为 2-N 峰的 55%. 化学位移 35 的谱峰可归属于游离 Arg 的 1-N, 而配位 Arg 的 1-N 谱峰未能观察到. 在相互作用体系的  $^{15}\text{N}$  NMR 谱中未出现类似  $^1\text{H}$  或  $^{13}\text{C}$  NMR 谱中两组谱峰的原因可能如下: 在物种  $[\text{OV}(\text{O}_2)_2\text{Arg}]^-$  中的 Arg, 与钒配位的 1-N 原子由于存在 V-N 相互作用, 使得 1-N 的弛豫加

快,因此 $^{15}\text{N}$ 的谱峰明显加宽,加上 $^{15}\text{N}$  NMR 谱的信噪比较低,从而导致在图 5(b)中无法观察到与钒配位的 1-N 谱峰,在金属与氮直接配位的体系中已有类似的报道<sup>[21]</sup>.而 2-N, 3-N 和 4-N 三原子远离配位点,其化学环境在配位前后变化不大.另一方面,图 5(a)中游离 Arg 的 1-N 原子易受相互作用体系的化学环境影响,这样其 $^{15}\text{N}$ 的化学位移比图 5(a)向低场移动. 2. 从 $^{15}\text{N}$  NMR 的结果可推测物种 $[\text{OV}(\text{O}_2)_2\text{Arg}]^-$ 中 V 与 Arg 相互作用的位点在 1-N 上(2-C 位上的 $\text{NH}_2$ 基团).这与 N 原子具有比 O 原子更强的配位能力的性质也一致.

根据文献[22],物种 $[\text{OV}(\text{O}_2)_2]^-$ 与单齿配体配位时,配位点位于 2 个过氧根(4 个氧原子)组成的赤平面上,并与 V 原子形成一个五角锥形结构,其中 V 原子以 6 配位方式存在,即物种 $[\text{OV}(\text{O}_2)_2\text{Arg}]^-$ 在溶液中有着和 $\text{HIm}[\text{OV}(\text{O}_2)_2\text{Im}] \cdot \text{H}_2\text{O}$ (Im 为咪唑)<sup>[23]</sup>和 $\text{NH}_4[\text{OV}(\text{O}_2)_2\text{NH}_3] \cdot \text{H}_2\text{O}$ <sup>[24]</sup>等类似的配位方式.

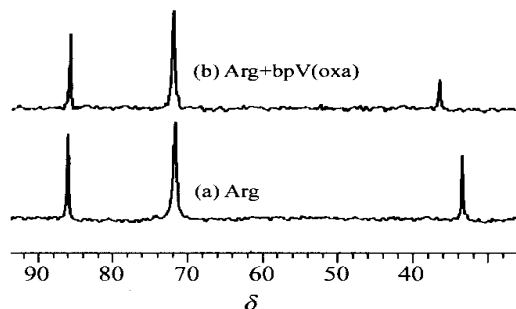


图 5 bpV(oxa) 与 Arg 相互作用前后的 $^{15}\text{N}$  NMR 谱

Figure 5  $^{15}\text{N}$  NMR spectra of the interactions system between bpV(oxa) (0.2 mol/L) and Arg with 1:2 molar ratio

## 2.6 bpV(oxa) 与 Arg 相互作用的可能模式

bpV(oxa) 中的草酸根在一定情况下可以被其它配体所竞争取代而产生新的过氧钒物种. 结合 NMR 和 ES/MS 数据,我们认为本反应体系最可能的相互作用模式如图式 2 所示,主要的过程有:

(1) 在 $\text{D}_2\text{O}$ 溶液中,底物 bpV(oxa) 由晶体中的 7 配位变为 6 配位的物种 $[\text{OV}(\text{O}_2)_2(\text{oxa})]^{3-}$ <sup>[7-9]</sup>,此时 Arg 进攻中心金属使得 $\text{oxa}^{2-}$ 离去.这个过程可能经历 1 个八面体的中间体<sup>[2]</sup>,再经过结构重排生成 6 配位的过氧物种 $[\text{OV}(\text{O}_2)_2\text{Arg}]^-$ ;

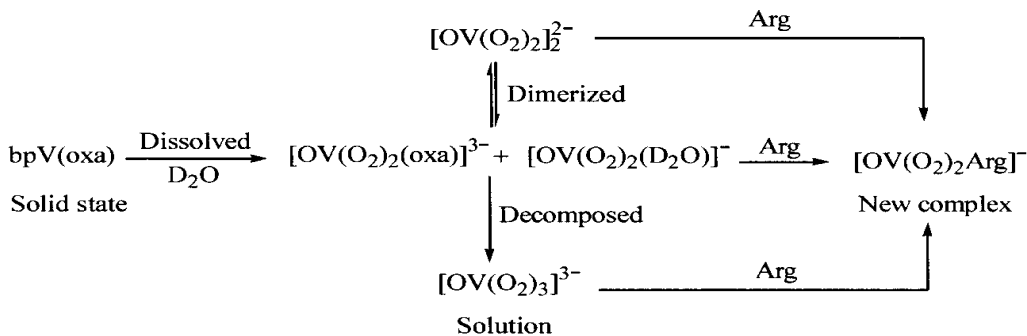
(2) bpV(oxa) 水解生成新的过氧钒物种 $[\text{OV}(\text{O}_2)_2(\text{D}_2\text{O})]^-$ ,后者经历与(1)类似的过程,最后生成过氧物种 $[\text{OV}(\text{O}_2)_2\text{Arg}]^-$ ;

(3) 由 $[\text{OV}(\text{O}_2)_2(\text{oxa})]^{3-}$ 和 $[\text{OV}(\text{O}_2)_2(\text{D}_2\text{O})]^-$ 产生的 $[\text{OV}(\text{O}_2)_3]^{3-}$ 也与 Arg 发生作用,过氧根被 Arg 取代再经过结构重排得到过氧物种 $[\text{OV}(\text{O}_2)_2\text{Arg}]^-$ ;

(4)  $[\text{OV}(\text{O}_2)_2(\text{oxa})]^{3-}$ 和 $[\text{OV}(\text{O}_2)_2(\text{D}_2\text{O})]^-$ 聚合产生二聚体,后者也可与 Arg 发生作用而生成 $[\text{OV}(\text{O}_2)_2\text{Arg}]^-$ .

## 3 结论

本文利用多种 NMR 技术辅以 ES/MS 等谱学方法研究了 bpV(oxa) 与 Arg 的相互作用,发现它们生成新的过氧钒物种 $[\text{OV}(\text{O}_2)_2\text{Arg}]^-$ ,并进一步研究该体系的反应过程和配位机制以及所生成配合物的溶液结构.值得一提的是,应用核磁共振新技术 DOSY 可以分离多组分溶液的 NMR 信号,进而方便、直观地得出各组分所对应的 NMR 信号,所以 DOSY 特别适用于混合反应体系的研究,是值得注意的研究手段之一.



图式 2 体系相互作用的可能模式

Scheme 2 Possible interaction modes of the reaction system

本文为“纪念柳大纲先生诞辰一百周年”征文

## References

- 1 Thompson, K. H.; McNeill, J. H.; Orvig, C. *Chem. Rev.* **1999**, 99, 2561.
- 2 Keramidias, A. D.; Miller, S. M.; Anderson, O. P.; Crans, D. C. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 8901.

- 3 Yang, X.-G.; Yang, X.-D.; Wang, K. *Prog. Chem.* **2002**, *14*, 279 (in Chinese).  
(杨晓改, 杨晓达, 王夔, 化学进展, **2002**, *14*, 279.)
- 4 Yang, P.; Yang, G.-Y. *Chemistry* **2001**, *64*, 553 (in Chinese).  
(杨频, 韩广业, 化学通报, **2001**, *64*, 553.)
- 5 Tracey, A. S.; Jaswal, J. S. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 3835.
- 6 Zhou, X.-W.; Ye, J.-L.; Chen, Z.; Chen, Z.-W.; Huang, P.-Q. *Acta Chim. Sinica* **2002**, *60*, 835 (in Chinese).  
(周兴旺, 叶剑良, 陈忠, 陈志伟, 黄培强, 化学学报, **2002**, *60*, 835.)
- 7 Yu, X.-Y.; Cai, S.-H.; Chen, Z.; Huang, P.-Q. *Acta Chim. Sinica* **2003**, *61*, 994 (in Chinese).  
(于贤勇, 蔡淑惠, 陈忠, 黄培强, 化学学报, **2003**, *61*, 994.)
- 8 Cai, S.-H.; Yu, X.-Y.; Chen, Z.; Wan, H.-L. *Chin. J. Chem.* **2003**, *7*, 746.
- 9 Yu, X.-Y.; Cai, S.-H.; Chen, Z. *Spectrochim. Acta, Part A* **2004**, *60*, 391.
- 10 Campbell, N. S.; Dengel, A. C.; Griffith, W. P. *Polyhedron* **1989**, *8*, 1379.
- 11 Bagon, A.; Conte, V.; Furia, F. D.; Moro, S. *J. Phys. Chem. A* **1997**, *101*, 4637.
- 12 Tracey, A. S.; Jaswal, J. S. *Inorg. Chem.* **1993**, *32*, 4235.
- 13 Gugliano, D.; Marfella, R.; Verrazzo, G.; Acampora, R.; Coppola, L.; Cozzolino, D.; Donofrio, F. *J. Clin. Invest.* **1997**, *99*, 433.
- 14 Begin, D.; Einstein, F. W. B.; Field, J. *Inorg. Chem.* **1975**, *14*, 1785.
- 15 Zhou, X.-W.; Ye, J.-L.; Chen, Z.; Chen, Z.-W.; Yu, L.-J.; Huang, P.-Q.; Wu, Q.-Y. *Chin. J. Struct. Chem.* **2000**, *19*, 343.
- 16 Stamps, J. P.; Ottink, B.; Visser, J. M.; van Duynhoven, J. P. M.; Hulst, R. *J. Magn. Reson.* **2001**, *151*, 28.
- 17 Jaswal, J. S.; Tracey, A. S. *Inorg. Chem.* **1991**, *30*, 3718.
- 18 Schmidt, H.; Andersson, I.; Rehder, D.; Pettersson, L. *Chem. Eur. J.* **2001**, *7*, 251.
- 19 Jameson, C. J.; Rehder, D.; Hoch, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 2589.
- 20 Bortolini, O.; Carraro, M.; Conte, V.; Moro, S. *Eur. J. Inorg. Chem.* **1999**, *9*, 1489.
- 21 Levy, G. C.; Dechter, J. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 6191.
- 22 Conte, V.; Bortolini, O.; Carrao, M.; Moro, S. *J. Inorg. Biochem.* **2000**, *80*, 41.
- 23 Crans, D. C.; Keramidas, A. D.; HooverLitty, H.; Anderson, O. P.; Miller, M. M.; Lempine, L. M.; Pleasic Williams, S.; Vandenberg, M.; Rossomando, A. J.; Sweet, L. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 5447.
- 24 Drew, R. E.; Einstein, F. W. B. *Inorg. Chem.* **1972**, *11*, 1079.

(A0311245 SHEN, H.; LING, J.)