

• 研究论文 •

[Cr(III)(SSA)(en)₂] \cdot 2H₂O 配合物的合成、表征及性质研究

刘斌 李英奇 杨斌盛*

(山西大学分子科学研究所 化学生物学与分子工程教育部重点实验室 太原 030006)

摘要 有机铬(III)配合物具有较高的生物利用率. 本文合成了一种新型磺基水杨酸铬(III)混配配合物 [Cr(SSA)(en)₂] \cdot 2H₂O (SSA=5-磺基水杨酸, en=乙二胺), 通过红外、紫外、荧光光谱以及元素分析、电导率测定和 X 晶体衍射等方法对其结构进行了表征. 在 pH 7.4, 0.05 mol \cdot L⁻¹ Tris-HCl 缓冲液中, 利用荧光光谱研究了配合物与人血清白蛋白的结合. 结果表明配合物可与人血清白蛋白以较强的分子间作用力结合, 条件结合常数为 $(2.7 \pm 0.1) \times 10^4$ mol \cdot L⁻¹, 结合位点数为 3.87. 在 pH 7.4, 0.05 mol \cdot L⁻¹ Tris-HCl 缓冲液中, 观察了不同温度下 EDTA 和脱铁伴清蛋白为竞争剂的配体取代反应动力学行为, 其中 37 °C 时反应速率常数分别为 0.0142 和 0.0225 h⁻¹.

关键词 铬(III)配合物; 5-磺基水杨酸; 人血清白蛋白; 脱铁伴清蛋白; 荧光光谱

Synthesis, Characterization and Properties of Chromium(III) Complex [Cr(III)(SSA)(en)₂] \cdot 2H₂O

LIU, Bin LI, Ying-Qi YANG, Bin-Sheng*

(Key Laboratory of Chemical Biology and Molecular Engineering of Ministry of Education of China, Institute of Molecular Science, Shanxi University, Taiyuan 030006)

Abstract In this paper new chromium(III) complex [Cr(SSA)(en)₂] \cdot 2H₂O (en=ethylenediamine, SSA=5-sulfosalicylic acid) was synthesized and characterized by elemental analysis, IR, UV-Vis and X-ray crystallography. The interaction of human serum albumin with the complex was investigated by fluorescence spectra, the conditional binding constant K $(2.7 \pm 0.1) \times 10^4$ and the number of binding sites n (3.87) were obtained. The kinetics of release of Cr³⁺ from [Cr(SSA)(en)₂] \cdot 2H₂O to EDTA and apoovotransferrin was investigated at different temperatures in 0.05 mol \cdot L⁻¹ Tris-HCl buffer at pH 7.4 by fluorescence spectrophotometer, and the respective rate constants at 37 °C were 0.0142 and 0.0225 h⁻¹.

Keywords chromium(III) complex; 5-sulfosalicylic acid; human serum albumin; apoovotransferrin; fluorescence spectroscopy

铬是生物必需的微量元素, 在酶的催化和加强糖代谢等方面具有重要作用^[1~5]. 缺铬可使组织对胰岛素的敏感性降低. 补充适量有机铬的化合物可以达到降低血糖、改善糖耐量等目的^[6,7]. 目前用于营养补铬品的有机铬(III)化合物主要有烟酸铬、氨基酸铬和吡啶甲酸铬 Cr(pic)₃ 等, 其中 Cr(pic)₃ 配合物是当前应用最广泛的营养补铬剂^[8]. 然而, 由于该营养补铬剂存在可能引起染

色体损伤和 DNA 的突变, 诱发癌症的发生等缺点^[9,10], 它的使用已引起人们的怀疑. 因此, 合成高效、低毒、易吸收的新型有机铬配合物引起人们的关注.

铬在动物体内的吸收和转运机制仍不确定^[11,12]. 推断血清白蛋白和转铁蛋白均有可能在铬(III)的生物转化过程中起重要作用^[13~15]. 本文以 5-磺基水杨酸和乙二胺作为配体, 合成并表征了一种新的铬(III)配合物, 用

* E-mail: yangbs@sxu.edu.cn

Received August 5, 2005; revised November 16, 2005; accepted January 12, 2006.

国家自然科学基金(No. 20371031)和山西省自然科学基金(No. 20031017)资助项目.

荧光光谱研究了其与人血清白蛋白的相互作用, 使用 EDTA 和脱铁伴清蛋白为竞争剂, 观察了配合物的配体取代反应动力学性质.

1 实验部分

1.1 试剂和仪器

人血清白蛋白(human serum albumin, HSA)和脱铁伴清蛋白(apoovotransferrin, apoOTf)均为 Sigma 产品; 5-磺基水杨酸(5-sulfosalicylic acid, SSA), 无水乙二胺(ethylenediamine, en), 六水合氯化铬($\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), 锌粒, 三羟甲基氨基甲烷(Tris), 乙二胺四乙酸(EDTA)等均为分析纯试剂.

Hitachi 850 型荧光光谱仪, HP 8453 UV-Vis 吸收光谱仪, Shimadzu 8300 FT-IR 红外光谱仪, Perkin-Elmer 240B 型元素分析仪, 微量加样器(eppendorf), DDS-307 电导率仪(上海雷磁仪器厂), Shimadzu TB-85 水浴自动控温器, Smart Apex CCD X 衍射仪.

1.2 实验方法

1.2.1 配合物的合成

称取 0.665 g (2.50 mmol) $\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 和 0.645 g (2.50 mmol) 5-磺基水杨酸置于 100 mL 圆底烧瓶中, 加入 30 mL 无水乙醇溶解, 并投入 0.1 g 锌粒加热回流, 缓慢滴入 2 mL 无水乙二胺, 溶液的颜色由绿色变为红色, 继续反应 30 min, 冷却后析出大量粉红色粉末^[16]. 抽滤, 先后用无水乙醇和乙醚洗涤三到五次, 室温干燥至恒重, 产率为 82%. 滤液经室温放置数周后析出少量红色晶体.

1.2.2 配合物的 X 射线晶体结构分析

选取 0.40 mm × 0.10 mm × 0.10 mm 大小的单晶, 置于 Bruker Smart Apex CCD 面探衍射仪上, 采用 Mo K α 射线, 以 phi and omega scans 方式收集, 在 293 (2) K 下, 2.46°~26.94° 范围内收集 3065 衍射点, 其中 2776 个 [$I > 2\sigma$] 独立衍射点用于结构测定和修正, 用直接法得到全部非氢原子坐标, 所有非氢原子坐标均采用各向异性热参数修正, 最终偏差因子 $R_1 = 0.0866$, $R_w = 0.1484$, 所有的计算均使用 SHELXTL-97 程序进行. 晶体学数据列于表 1.

1.2.3 储备液的配制

按文献方法对人血清白蛋白和脱铁伴清蛋白进行纯化, 制备成蛋白质储备液^[17]. 脱铁伴清蛋白浓度由 280 nm 处的吸光度确定, 其中脱铁伴清蛋白的 $\epsilon_{280} = 91200 \text{ cm}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{L}^{[17]}$; 人血清白蛋白浓度由 280 nm 处吸光度确定, 其中人血清白蛋白 $\epsilon_{280} = 36520 \text{ cm}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{L}^{[18]}$. 用蒸馏水配制 $0.05 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Tris-HCl 缓冲液

表 1 [Cr(III)(SSA)(en)₂] $\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 的晶体学数据

Table 1 Crystal data and structure refinement for [Cr(III)(SSA)(en)₂] $\cdot 2\text{H}_2\text{O}$

Empirical formula	CrC ₁₁ H ₂₃ N ₄ O ₈ S
Formula weight	423.39
Temperature	293 (2) K
Crystal system	monoclinic
Unit cell dimensions:	
<i>a</i>	1.199(5) nm
<i>b</i>	1.013(8) nm
<i>c</i>	1.493(3) nm
β	105.081(4)°
<i>V</i>	1.753(5) nm ³
Crystal size	0.40 mm × 0.10 mm × 0.10 mm
	−14 ≤ <i>h</i> ≤ 14
Index ranges	−12 ≤ <i>k</i> ≤ 11
	−17 ≤ <i>l</i> ≤ 14
Crystal density	1.604 mg/cm ³
<i>Z</i>	4
Wavelength (Mo K α)	0.071073 nm
<i>F</i> (000)	884
Absorption coefficient	0.819 mm ^{−1}
Space group	<i>P</i> 2(1)/ <i>c</i>
θ range for data collection	2.46°~26.94°
<i>R</i> indices [$I > 2\sigma$]	
<i>R</i> ₁	0.0970
<i>R</i> _{w2}	0.1519
Reflections collected	3061
Unique reflections	2772 [$R(\text{int}) = 0.0429$]

(pH=7.4)溶液.

1.2.4 光谱测定

紫外光谱测定使用 1 cm 吸收池, 在 200~800 nm 波长范围内使用 HP 8453 UV-Vis 吸收光谱仪测定. 荧光光谱在 Hitachi 850 型荧光光谱仪上使用 1 cm 石英池测定. 实验中所有的玻璃仪器以及荧光池均用 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 HNO₃ 浸泡后用去离子水冲洗干净.

2 结果与讨论

2.1 配合物的表征

2.1.1 元素分析

C, H, N 含量用 Perkin-Elmer 240B 型元素分析仪测定, 铬含量测定按照文献方法^[19], 使用 H₂O₂ 为氧化剂, 于 372 nm 处测定吸光度. 由分子式 CrC₁₁H₂₁O₇N₄S 计

算: C 32.59, H 5.19, N 13.83, Cr 12.83; 实验: C 32.72, H 5.30, N 13.82, Cr 12.45. 实验值与理论值相吻合.

2.1.2 配合物晶体结构描述

配合物晶体结构见图 1. 配合物主要的键长和键角列于表 2. 该晶体属于单斜晶系, 空间点群为 $P2(1)/c$. 中心铬离子是以六配位形成畸变八面体结构, 分别与来自磺基水杨酸配体上的羧基氧, 酚羟基氧(Cr—O, 0.1899~0.1929 nm)和两个乙二胺上—NH₂基(Cr—N, 0.2061~0.2089)配位, N(1)与 N(4)占据八面体的轴向位置, O(1), O(2)和 N(2), N(3)四原子占据平伏位置. 磺基带一个单位负电荷, 整个配合物分子呈电中性. 每个配合物分子含一个六元环(C—C—O—Cr—O—C)和两个五元环(C—N—Cr—N—C), 外围带两个水分子. 晶体内包含丰富的氢键(N—H \cdots O, N—H \cdots S, O—H \cdots O, O—H \cdots S 等), 组成稳定的晶体结构. 磺基水杨酸常以羧基氧配位, 同时以羧基氧、酚羟基氧原子参与配位的情况较为少见. 常见 Cr—O 键长为 0.196 nm, 而该晶体 Cr—O 键长较短, 分别为 0.189(9)和 0.192(9) nm. 可能是此配位方式既满足了铬六配位要求, 又使铬离子的电荷得以中和等缘故. 此配位方式同时又影响了磺基水杨酸的光谱性质, 与铬配位后其紫外吸收峰明显红移, 荧光几乎被完全淬灭(见 2.1.4 节).

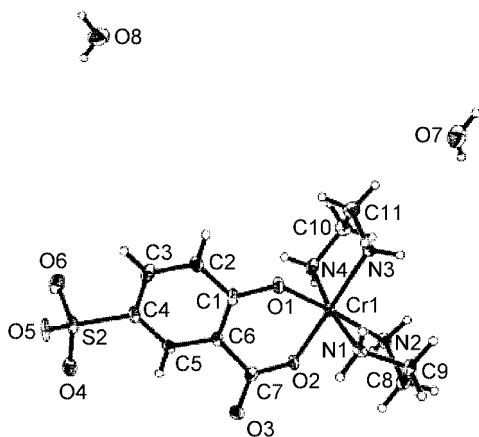


图 1 配合物分子结构

Figure 1 Molecular structure of the compound

2.1.3 摩尔电导率

配合物易溶于水. 取浓度为 $1.00 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的配合物溶液, 使用 DDS-307 电导率仪在温度为 20°C 时测得的电导率为 $6 \mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$, 表明配合物为电中性物质.

2.1.4 紫外-可见吸收光谱和荧光光谱

图 2 为 5-磺基水杨酸和配合物水溶液在 $200 \sim 600 \text{ nm}$ 范围内的吸收光谱. 5-磺基水杨酸与 Cr^{3+} 配位后其苯环的三个 $\pi-\pi^*$ 吸收峰均发生较大红移, R, K, B 吸收带分别红移 18, 34 和 28 nm, 说明 π 共轭体系上的电子云向

表 2 配合物主要的键长(nm)和键角($^\circ$)

Table 2 Selected bond lengths (nm) and angles ($^\circ$)

Cr(1)—O(1)	0.1899(4)	Cr(1)—O(2)	0.1929(4)
Cr(1)—N(1)	0.2060(5)	Cr(1)—N(2)	0.2089(5)
Cr(1)—N(3)	0.2075(5)	Cr(1)—N(4)	0.2082(3)
O(1)—Cr(1)—O(2)	91.85(17)	O(1)—Cr(1)—N(1)	93.87(19)
O(2)—Cr(1)—N(1)	91.64(19)	O(1)—Cr(1)—N(4)	91.21(18)
O(2)—Cr(1)—N(4)	96.05(19)	N(1)—Cr(1)—N(4)	170.65(19)
O(1)—Cr(1)—N(3)	87.18(18)	O(2)—Cr(1)—N(3)	178.08(19)
N(1)—Cr(1)—N(3)	90.08(19)	N(4)—Cr(1)—N(3)	82.32(19)
O(1)—Cr(1)—N(2)	175.3(2)	O(2)—Cr(1)—N(2)	85.23(18)
N(1)—Cr(1)—N(2)	82.6(2)	N(4)—Cr(1)—N(2)	92.8(2)
N(3)—Cr(1)—N(2)	95.84(19)		

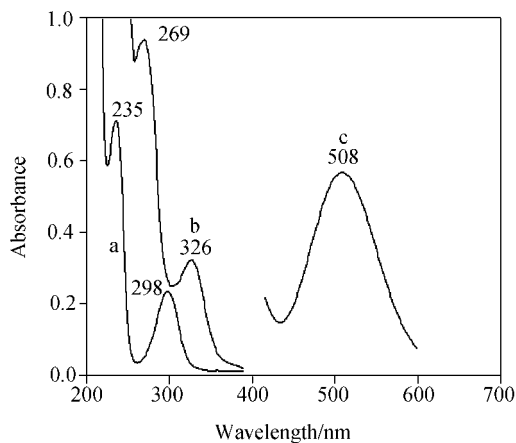


图 2 5-磺基水杨酸和铬配合物吸收光谱

Figure 2 Absorbance spectra of SSA and Cr(SSA)(en)₂

(a) $[\text{SSA}] = 1.0 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$; (b) $[\text{Cr}(\text{SSA})(\text{en})_2] = 1.5 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$; (c) $[\text{Cr}(\text{SSA})(\text{en})_2] = 2 \times 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$

Cr^{3+} 的空 d 轨道发生了转移; 配合物在 508 nm 出现的吸收峰归属为配合物中 Cr^{3+} 的 d-d 跃迁峰. 同样条件下 $\text{Cr}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$ d-d 跃迁峰分别在 406 和 574 nm, $\text{Cr}(\text{en})_3^{3+}$ 的分别为 348 和 448 nm, 说明配合物中 Cr^{3+} 与氧原子和氮原子配位.

图 3 为 5-磺基水杨酸和金属配合物水溶液(pH 7.4)在 $360 \sim 480 \text{ nm}$ 范围内的荧光光谱. 5-磺基水杨酸在 410 nm 附近具有强的荧光, 当其与 Cr^{3+} 配位形成配合物后 410 nm 附近的荧光几乎被完全淬灭.

2.1.5 红外光谱分析

用 KBr 压片法使用 Shimadzu 8300 FT-IR 红外光谱仪测定配合物和 5-磺基水杨酸的红外光谱, 其主要吸收频率及归属列于表 3.

由表 3 红外光谱数据可以看出, 由于分子中有结晶水和 NH_2 基团的存在, 配合物在 $3000 \sim 3500 \text{ cm}^{-1}$ 出现宽而强的系列吸收峰; 配合物在 3232 和 3138 cm^{-1} 处强吸收峰(肩峰)是该配合物中乙二胺上—NH₂ 基团的伸缩

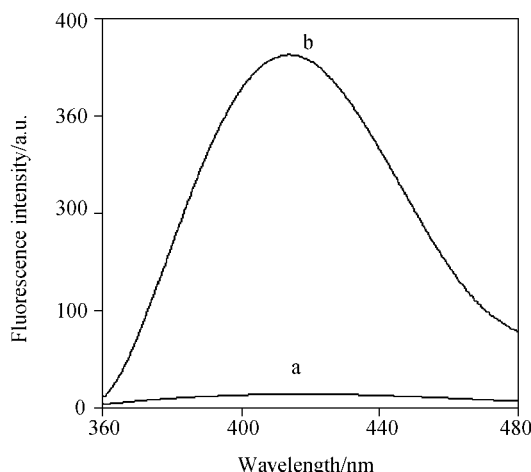


图3 5-磺基水杨酸和铬配合物荧光光谱

Figure 3 Fluorescence spectra of SSA and Cr(SSA)(en)₂
狭缝宽度为 10 nm; λ_{ex}=280 nm; (a) [Cr(SSA)(en)₂]=1.0×10⁻⁶ mol·L⁻¹;
(b) [SSA]=1.0×10⁻⁶ mol·L⁻¹

表3 磺基水杨酸及其配合物的主要红外吸收频率及归属

Table 3 Principle characteristic IR absorption frequency of [Cr(SSA)(en)₂]·2H₂O and SSA

	水杨酸	配合物
—OH 伸缩振动	3450 s, 1190 s	
—NH ₂ 伸缩振动		3232 s, 3138 s
—C=O 伸缩振动	1676 vs	1573 s, 1417 s
苯环骨架伸缩振动	1630 s, 1585 w, 1490 m	1627 vs, 1512 w
—CH ₂ 伸缩振动		1473 s
—SO ₃ 伸缩振动	1232 m	1230 m

振动所致; 在 2859~2972 cm⁻¹ 处的吸收峰可归属为配合物中乙二胺上亚甲基伸缩振动及反对称伸缩振动; 1573, 1417 cm⁻¹ 处的两个吸收强度相等的强吸收峰归属于该配合物中磺基水杨酸根上的羧基氧与铬离子发生配位而引起的反对称伸缩振动和对称伸缩振动, 而磺基水杨酸自由羧基的伸缩振动峰在 1676 cm⁻¹, 说明磺基水杨酸根中羧基氧与铬离子发生了单齿配位^[20]; 1627 和 1512 cm⁻¹ 处的吸收峰可归属为配合物中磺基水杨酸根上苯环的骨架振动; 1213 cm⁻¹ 处的吸收峰可归属为磺酸根的伸缩振动峰, 未发生分裂, 说明磺酸根未参与配位; 1190 cm⁻¹ 的强吸收峰的消失说明磺基水杨酸根上酚羟基氧发生了配位。

2.2 配合物与人血清白蛋白作用

白蛋白是人血清中最丰富的蛋白质, 它可作为许多内源性和外源性化合物的存贮和转运蛋白, 在生命活动中有着十分重要的作用. 在内源、外源性化合物与人血清白蛋白相互作用研究中, 色氨酸残基的内源荧光常被用作有效的光谱探针. 图 4 曲线 a 是 pH 7.4, 0.05 mol·L⁻¹ Tris-HCl 缓冲液中, 用 280 nm 波长激发人血清白蛋白

(2.13×10⁻⁶ mol·L⁻¹) 的荧光光谱. 向人血清白蛋白溶液中逐渐滴加配合物(1.02×10⁻⁴ mol·L⁻¹) 溶液, 每次滴加后反应 30 min, 可观察到 345 nm 处荧光强度的逐渐减小, 而最大峰位无明显移动, 如图 4 曲线 b→d. 若配合物与人血清白蛋白结合形成不发荧光的蛋白质-配合物复合物, 且每个血清白蛋白有 *n* 个相互独立且完全等同的结合部位^[21,22], 则有:

$$[P]_b = [P]_t(F_0 - F)/F_0 \quad (1)$$

$$[P]_f = [P]_t F/F_0 \quad (2)$$

$$[D]_t/[P]_b = F_0/(K[P]_t F) + n \quad (3)$$

其中 [P]_t 表示人血清白蛋白的总浓度, [P]_b 为结合有配合物的人血清白蛋白浓度, [P]_f 为游离的人血清白蛋白浓度, [D]_t 为配合物的总浓度, F₀ 和 F 分别表示不加入和加入配合物的人血清白蛋白荧光强度, K 为配合物与蛋白质的结合常数, n 为结合位点数.

利用图 4 中配合物对人血清白蛋白的荧光淬灭数据, 根据(1)式计算结合配合物的人血清白蛋白的浓度 [P]_b, 以 [D]_t/[P]_b 对 F₀/(F) 作图, 得图 5. 由图 5 直线的斜率可得结合常数 K 为 (2.7±0.1)×10⁴ mol·L⁻¹, 由直线的截距可得 n 为 3.87. 即每个人血清白蛋白可结合 4 个配合物.

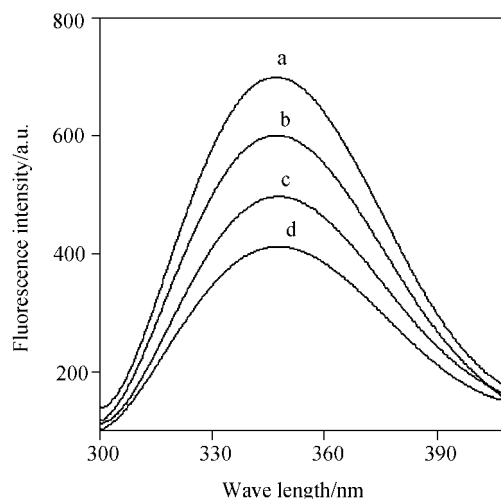


图4 不同浓度铬配合物时人血清白蛋白的荧光光谱

Figure 4 Fluorescence spectra of HSA at different concentrations of Cr(SSA)(en)₂

Cr(SSA)(en)₂ 的体积 V/μL: a, 0; b, 30; c, 70; d, 100

2.3 配合物反应动力学

2.3.1 配合物与 EDTA 的反应

Cr³⁺ 为 d³ 电子构型, 八面体六配位结构配合物常常表现为反应动力学惰性, 因此与相应的补铬剂的生物利用率相关. 由图 3 可见, 5-磺基水杨酸在 410 nm 处有很强的荧光, 当与 Cr³⁺ 配位后 410 nm 处的荧光几乎被完

全淬灭. 向配合物溶液中加入过量的 EDTA 溶液, 由于 EDTA 与 5-磺基水杨酸竞争 Cr^{3+} , 5-磺基水杨酸与 Cr^{3+} 解离, 410 nm 处的荧光逐渐增强. 图 6 曲线 a 是 pH 7.4, $0.05 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Tris-HCl, 37°C 条件, 配合物与 EDTA 反应时 410 nm 处的荧光强度随时间增加的曲线. 由图 6 曲线 a 可见, 37°C 时 410 nm 处的荧光强度随时间的增加而呈指数形式增加, 约 200 h 时荧光强度的增加趋缓. 按单指数方程拟合荧光强度随时间的变化可得反应速率常数约为 0.014 h^{-1} . 相同条件下, 降低温度, 反应速率减慢. 图 6 曲线 b 为 25°C 时 406 nm 处的荧光强度随时间增加的曲线, 其反应速率约为 0.00464 h^{-1} .

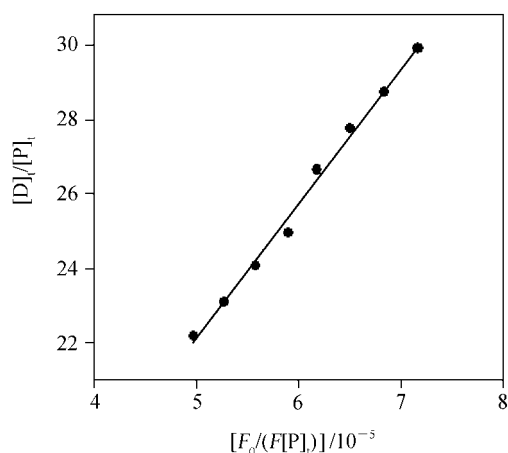


图 5 配合物对人血清白蛋白荧光淬灭的 Scatchard 图

Figure 5 Scatchard plots of fluorescence quenching of HSA by Cr(SSA)(en)₂

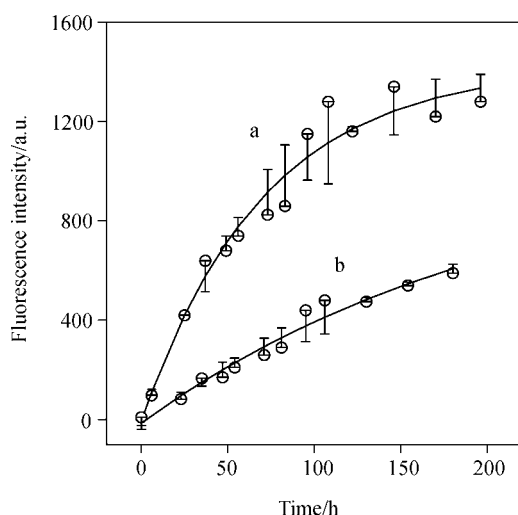


图 6 EDTA 与配合物反应体系 410 nm 处荧光强度随时间变化拟合曲线

Figure 6 Curves of fluorescence intensity at 410 nm vs. time for the reaction of Cr(SSA)(en)₂ with EDTA

[EDTA] : [Cr(SSA)(en)₂] = 12 : 1, $\lambda_{\text{ex}} = 280 \text{ nm}$; a, 37.5°C ; b, 25°C

2.3.2 配合物与脱铁伴清蛋白的反应

伴清蛋白与转铁蛋白为同一家族的单肽链非血红

素铁结合蛋白. 该蛋白具有两个非常类似但化学性质不同的结构域, 每个结构域具有一个金属离子结合部位, 分别被称为 N、C-端结合部位. 在伴阴离子(通常是 CO_3^{2-})的存在下, 伴清蛋白与 Fe^{3+} 形成稳定的配合物. 同样条件下伴清蛋白也可与其他金属离子形成稳定的配合物^[23-25]. 用微酸性(pH 5.0) CrCl_3 ($3.4 \times 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 溶液滴定脱铁伴清蛋白($1.05 \times 10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$), $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Tris-HCl buffer, pH=7.4. 蛋白质 336 nm 处荧光被淬灭. 为了保证每一滴定达到平衡, 滴加 Cr^{3+} 后在室温下反应 30 min, 测定蛋白质 336 nm 处荧光强度, 并将其转化为摩尔荧光强度 F_M (荧光强度除以蛋白质分析浓度, 以消除滴定过程中的稀释效应). 以 F_M 对 $[\text{Cr}]/[\text{apoOTf}]$ 作图, 如图 7 所示. 由图 7 可见, 当 $[\text{Cr}]/[\text{apoOTf}] \approx 2$ 时, 蛋白质的荧光淬灭约 45%. 同样条件下用 5-磺基水杨酸滴定伴清蛋白, 观察不到对蛋白质荧光的明显淬灭, 且在 410 nm 处出现 5-磺基水杨酸的荧光峰.

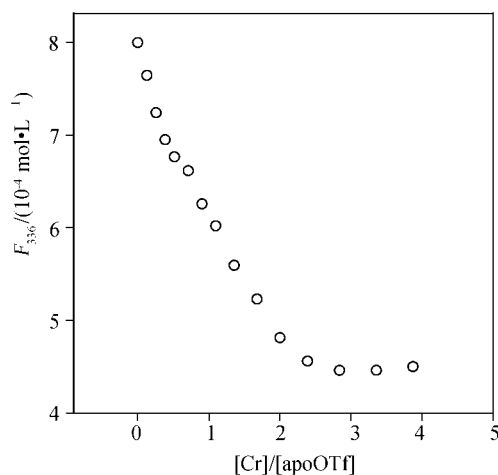


图 7 Cr^{3+} 对脱铁伴清蛋白的滴定曲线

Figure 7 Titration curve for the addition of chromic ions to apoOTf ($\lambda_{\text{ex}} = 280 \text{ nm}$)

图 8 是 pH 7.4, $0.05 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Tris-HCl, 37°C 条件下, 配合物与脱铁伴清蛋白反应时 336 nm 处的荧光强度随时间减小的曲线. 由图 8 可见, 37°C 时随时间的增加 336 nm 处的荧光强度呈指数形式递减, 约 100 h 时荧光强度的变化趋缓. 说明配合物在脱铁伴清蛋白作用下分解, Cr^{3+} 与脱铁伴清蛋白结合后蛋白质荧光被淬灭^[26]. 按单指数方程拟合荧光强度随时间的变化, 可得反应速率常数约为 0.0225 h^{-1} .

在配合物与脱铁伴清蛋白作用过程中未观察到类似于配合物与 EDTA 反应时磺基水杨酸在 410 nm 处荧光强度增强的现象. 据文献报道^[27], 除了 CO_3^{2-} 外, $^-\text{OOC}_6\text{H}_4\text{O}^-$ (水杨酸根) 阴离子可以充当伴阴离子, 在

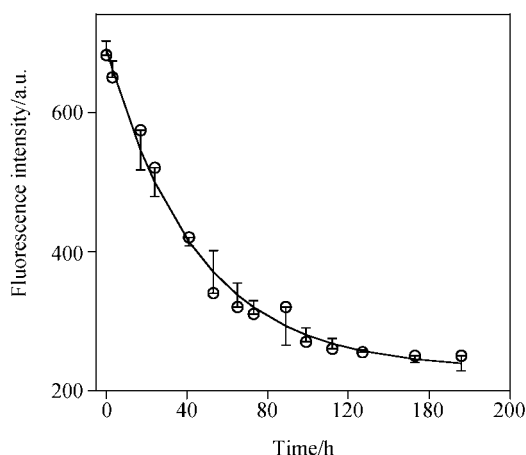


图8 伴清蛋白与配合物反应体系 336 nm 处荧光强度随时间变化曲线

Figure 8 Curve of fluorescence intensity at 336 nm vs. time for the reaction of Cr(SSA)(en)₂ and apoOTf

[apoOTf] : [Cr(SSA)(en)₂] = 2.2 : 1; λ_{ex} = 280 nm

伴阴离子协同作用下,金属离子可与脱铁转铁蛋白特异性地结合. 在整个反应过程中未观察到磺基水杨酸在 410 nm 处的特征荧光峰,可能是磺基水杨酸根取代 CO₃²⁻ 而起伴阴离子的作用,促进 Cr³⁺ 和伴清蛋白的配位.

Vincent 等^[15]用 UV-Vis 吸收光谱研究了在 5% DMSO 和 95% Tris (0.05 mol·L⁻¹, pH 7.5)缓冲液中 Cr(pic)₃ 与脱铁伴清蛋白的作用,实验条件下观察不到 Cr³⁺ 由 Cr(pic)₃ 向脱铁伴清蛋白的转化. 比较相同温度下配合物 Cr(SSA)(en)₂ 与 EDTA 和脱铁伴清蛋白的反应速率常数(37 °C)可知,后者能更快地夺取 Cr³⁺. 由此可见,以转铁蛋白为 Cr³⁺ 转运体时配合物 Cr(SSA)(en)₂ 较 Cr(pic)₃ 易被人体吸收.

3 结论

在 pH 7.4, 0.05 mol·L⁻¹ Tris-HCl 条件下,所合成的有机铬(III)配合物[Cr(SSA)(en)₂]·2H₂O (SSA=5-磺基水杨酸, en=乙二胺)可与人血清白蛋白以较强的分子间作用力结合,条件结合常数为(2.7±0.1)×10⁴ mol·L⁻¹, 结合位点数为 3.87. 配体取代反应动力学研究表明 EDTA 可置换 Cr³⁺ 的 5-磺基水杨酸、乙二胺配体,而脱铁伴清蛋白仅置换 Cr³⁺ 的乙二胺配体. 37 °C 时反应速率常数分别为 0.0142 和 0.0225 h⁻¹. 以转铁蛋白为 Cr³⁺ 转运体时配合物 Cr(SSA)(en)₂ 较 Cr(pic)₃ 易被人体吸收.

References

1 Vincent, J. B. *Acc. Chem. Res.* **2000**, *33*, 503.

- 2 Anderson, R. A. *Clin. Physiol. Biochem.* **1986**, *4*, 31.
- 3 Mertz, W. *J. Nutr.* **1993**, *123*, 626.
- 4 Anderson, R. A. *Trace Elements in Human and Animal Nutrition*, Vol. 1, 5th ed., Ed.: Mertz, W., Academic Press, Orlando, **1987**, pp. 225~244.
- 5 Glinsmann, W. H.; Mertz, W. *Metabolism* **1966**, *15*, 510.
- 6 Mertz, W.; Schwarz, K. *Arch. Biochem. Biophys.* **1955**, *58*, 504.
- 7 Davis, C. M.; Vincent, J. B. *J. Biol. Inorg. Chem.* **1997**, *2*, 675.
- 8 Anderson, R. A. *J. Adv. Med.* **1995**, *8*, 37.
- 9 Manyoats, K. R.; Yazzie, M.; Stearns, D. M. *J. Biol. Inorg. Chem.* **2002**, *7*, 791.
- 10 Stearns, D. M.; Silveira, S. M.; Wolf, K. K. *Mutat. Res.* **2002**, *513*, 35.
- 11 Vincent, J. B. *Polyhedron* **2001**, *20*, 20.
- 12 Sun, Y. J.; Ramirez, J.; Vincent, J. B. *J. Biol. Inorg. Chem.* **2000**, *5*, 129.
- 13 Borguet, F.; Corneli, R.; Lameire, N. *Biol. Trace Elem. Res.* **1990**, *449*, 26.
- 14 Borguet, F.; Cornelis, R.; Delanghe, J. *Clin. Chim. Acta* **1995**, *71*, 238.
- 15 Ollins, R. A.; Vincent, J. B. *Polyhedron* **1999**, *18*, 2891.
- 16 Hrivastava, H. Y.; Nair, B. U. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2000**, *270*, 749.
- 17 Li, Y. Q.; Yang, B. S. *Chin. J. Inorg. Chem.* **2000**, *16*(6), 939 (in Chinese).
(李英奇, 杨斌盛, 无机化学学报, **2000**, *16*(6), 939.)
- 18 Amisha Kamal, J. K.; Behere, D. V. *J. Biol. Inorg. Chem.* **2002**, *7*, 273.
- 19 Cooper, J. A. *Inorg. Chim. Acta* **1984**, *91*, 1.
- 20 Ma, W. X.; Qian, B. H.; Gao, J.; Xu, X. Y.; Lu, L. D. *Chin. J. Inorg. Chem.* **2005**, *21*, 612.
(马卫兴, 钱保华, 高健, 许兴有, 陆路德, 无机化学学报, **2005**, *21*, 612.)
- 21 Yang, B. S.; Yang, P. *Chin. Sci. Bull.* **1984**, *29*(17), 1066 (in Chinese).
(杨斌盛, 杨频, 科学通报, **1984**, *29*(17), 1066.)
- 22 Shrivastava, H. Y.; Nair, B. U. *J. Inorg. Biochem.* **2004**, *98*, 991.
- 23 Bai, H. J.; Liu, W.; Yang, B. S. *Acta Chim. Sinica* **2002**, *60*(7), 1253 (in Chinese).
(白海静, 刘文, 杨斌盛, 化学学报, **2002**, *60*(7), 1253.)
- 24 Yang, B. S. *J. Rare Earths* **1999**, *17*, 284 (in Chinese).
(杨斌盛, 中国稀土学报, **1999**, *17*, 284.)
- 25 Yang, B. S.; Harris, W. R. *Acta Chim. Sinica* **1999**, *57*, 503 (in Chinese).
(杨斌盛, Harris, W. R., 化学学报, **1999**, *57*, 503.)
- 26 Li, Y. Q.; Qiao, Q. R.; Yang, X. J.; Yang, B. S. *Chin. J. Chem.* **2005**, *23*, 1361.
- 27 Baker, E. N. *Adv. Inorg. Chem.* **1994**, *11*, 389.