

Ga(III) 与 EHPG 配合反应的光谱研究

王俊伟 田燕妮 周保娟 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 太原市坞城路 92 号 030006)

摘 要 在 0.1 mol/L pH 7.2, Tris-HCl 缓冲溶液和室温条件下, 用荧光光谱和紫外差光谱研究了 Ga^{3+} 与 *N,N*-乙二-[2-(2-羟基苯基)甘氨酸](EHPG) 的配合反应。结果表明: Ga^{3+} 与 EHPG 的配位比为 1/1。随着 Ga^{3+} 的不断滴加, EHPG 的荧光光谱在 310nm 处的最大荧光峰强度逐渐降低, 其紫外差光谱在 240nm 和 293nm 处的吸收峰逐渐增强。当 Ga^{3+} 达到一定量时, 310nm 处的荧光强度、紫外光谱中 240nm 和 293nm 处的吸收峰强度不再发生变化。通过计算可得: 在 240nm 处配合物 Ga-EHPG 的摩尔吸光系数为 $\epsilon = 5.41 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$, 条件稳定常数为 $\lg K_{\text{Ga-EHPG}} = 22.83$ 。

关键词 *N,N*-乙二-[2-(2-羟基苯基)甘氨酸], Ga^{3+} , 荧光光谱, 紫外差光谱。

中图分类号: O657.32 文献标识码: A 文章编号: 1004-8138(2007)05-0967-05

1 前言

镓虽然是人体内非必需微量元素, 但在生命医学领域, 镓占有重要地位, 近年来镓盐在作为治疗骨质疏松和癌症方面表现异常活跃。镓与转铁蛋白的亲合力与铁相近, 它也是结合在转铁蛋白铁的特异性结合位点上, 因此研究镓与转铁蛋白的结合具有重要的理论和实际意义。转铁蛋白通过结合、释放 Fe(III) 来捕获、运输、控制 Fe(III) 在生物体的浓度, 对 Fe(III) 的生物利用起着十分重要的作用^[1]。转铁蛋白具有两个类似的结构域, 每个结构域中作为天然底物的 Fe(III) 与两个酪氨酸的酚羟基、组氨酸的咪唑基、天冬氨酸的羧酸基及靠近精氨酸的碳酸根或碳酸氢根伴阴离子结合, 形成稳定的畸变八面体配合物^[2]。而 *N,N*-乙二-[2-(2-羟基苯基)甘氨酸](EHPG) 具有两个酚羟基、两个羧酸基、两个氨基, 其配位基团类似于转铁蛋白金属离子结合部位的配位基团(如图 1), 曾在转铁蛋白金属离子配位基团的确定中发挥重要作用。因此, EHPG 长久以来一直被人们用于模拟金属离子与转铁蛋白的结合^[3]。但尚未见 Ga(III) 与 EHPG 结合的条件稳定常数的报道。本文用荧光光谱和紫外差光谱测定了 EHPG 与 Ga^{3+} 的配合反应变化, 用整合剂竞争法测定了配合物 Ga-EHPG 的条件稳定常数。获得了一些有意义的结果, 希望能对镓转铁蛋白抗癌药物在临床上的应用提供理论依据, 为其在分子生物学中的作用提供有价值的信息。

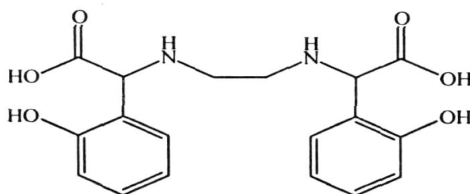


图 1 EHPG 的结构

山西省回国留学基金; 山西省自然科学基金(2006011016)资助项目

联系人, 电话: (0351) 7017584; Email: tianyann@sxu.edu.cn

作者简介: 王俊伟(1982—), 男, 河南省驻马店市人, 在读硕士, 主要从事生物无机及生物电化学研究。

收稿日期: 2007-06-15; 接受日期: 2007-08-01

2 实验部分

2.1 材料

N - N -乙炔-二[2-(2-羟基苯基)甘氨酸](EHPG)、乙二胺四乙酸(EDTA)、硫酸镓铵、Tris 均为分析纯,实验用水均为去离子水。

2.2 溶液的制备

2.2.1 Ga^{3+} 溶液的配制

准确称取 18.3mg 硫酸镓铵后,用三蒸水(去离子水)溶解并定容至 100mL,终浓度为 $1.0\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$,用时稀释至所需浓度。

2.2.2 EHPG 溶液的制备

称适量的 EHPG,加入适量的去离子水,加热至 EHPG 完全溶解,其浓度的确定用络合滴定法。 $Zn(II)$ 为滴定剂,二甲酚橙为指示剂,在 pH 7.2 的 Tris-HCl 缓冲溶液中进行滴定^[5]。

2.3 光谱测定

2.3.1 荧光光谱测定

荧光光谱在 290—400nm 范围内使用 LS-50B 荧光光谱仪(英国 PE 公司),光谱滴定在室温条件下使用 1cm 的荧光池。固定激发波长 280nm,滤光片 290nm,激发狭缝为 10nm,发射狭缝为 10nm。为了便于不同滴定数据的对比以及消除不同滴定中的稀释效应,数据处理中将相对荧光强度转化为以 EHPG 分析浓度表示的表观摩尔荧光强度 F 。

2.3.2 紫外差光谱的测定

紫外差光谱在 230—400nm 范围内使用 HP8453UV-Vis 光谱仪(美国惠普公司),光谱滴定在室温条件下使用 1cm 吸收池。数据处理中将吸光度转化为以 EHPG 分析浓度表示的表观摩尔吸光度。

3 结果与讨论

3.1 荧光光谱

在干燥的荧光池中加入 2mL 1.0mmol/L 的 EHPG,测定其发射光谱(如图 2 曲线 a 所示)。EHPG 在 310nm 处有最大荧光峰,逐渐滴加 Ga^{3+} ,310nm 处荧光强度逐渐降低,当 Ga^{3+} 浓度达到 $3.3\times 10^{-5}\text{mol/L}$ 时,其荧光强度不再发生变化(如图 2 曲线 $a-f$ 所示)。EHPG 在 310nm 处的荧光峰是芳香环的 $\pi^*-\pi$ 跃迁。将其荧光强度转化为表观摩尔荧光强度 F ,并对 Ga 与 EHPG 的摩尔比 $r_t(r_t=n_{Ga^{3+}}/n_{EHPG})$ 作图,结果如图 3。由图可知,随着 Ga(III) 的滴加, F 线性地减小,在 $r_t=1.0$ 处附近出现明显的拐点,当 $r_t>1.0$ 时,摩尔荧光强度不随 r_t 的增加而减小。Ga(III) 使 EHPG 在 310nm 处的荧光猝灭,表明 Ga(III) 与 EHPG 形成 1/1 的配合物^[6]。pH 滴定表明 EHPG 的酚羟基质子解离导致 310nm 处荧光猝灭。可见 Ga(III) 与 EHPG 结合时酚羟基以质子解离形式配位。

3.2 紫外差光谱

在 pH 7.2, Tris-HCl 缓冲溶液条件下,将 2mL 1.0mmol/L 的 EHPG 置于干燥的 1cm 吸收池中,用 Ga^{3+} 滴定,其紫外差光谱于 240nm 和 293nm 处出现两个正吸收峰,272nm 处出现一负吸收峰,258nm 和 282nm 处出现两个等吸收点,如图 4 所示。由图可知随着 Ga^{3+} 的量增大,240nm 和 293nm 处的吸收峰逐渐增高并最后停滞于某一最大值。240nm 和 293nm 处的吸收峰是由于 EHPG 与 Ga^{3+} 结合时酚羟基参与配位,使得 EHPG 芳香环受到微扰,从而影响 $\pi-\pi^*$ 跃迁产生的。因此,该差光谱的吸收峰能够表征 Ga-EHPG 配合物的形成。为了消除滴加溶液引起的稀释效应,将 240nm 处的吸光度与 EHPG 分析浓度相除,得出 Ga^{3+} 与 EHPG 结合的表观摩尔吸光度。以 240nm 处的表观摩尔吸光度对 Ga(III) 与 EHPG 的摩尔比作滴定曲线如图 5(a) 所示。可见,滴定曲线

在初始阶段呈线性增加, 到二者摩尔比为 1.0 附近出现明显拐点, 表明 Ga(III) 与 EHPG 形成 1/1 的稳定配合物。由此可认为滴定曲线的初始部分斜率是 Ga-EHPG 配合物的摩尔吸光系数 ϵ , $\epsilon = 5.41 \times 10^3 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ 。

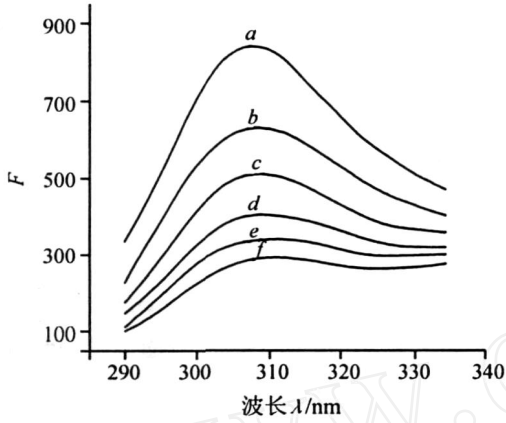


图 2 Ga³⁺ 滴定 EHPG 的荧光光谱

曲线 a, b, c, d, e, f——Ga³⁺ 分别为 5、10、15、20、25、30 μL。

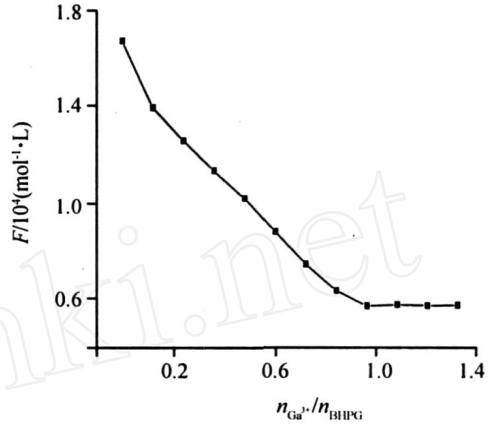


图 3 Ga³⁺ 对 EHPG 的荧光滴定曲线

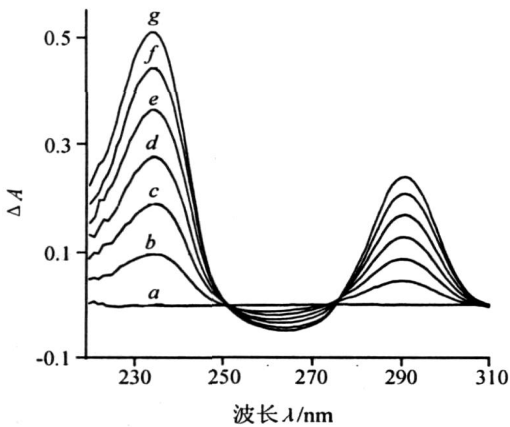


图 4 Ga³⁺ 滴定 EHPG 的紫外差光谱

曲线 a, b, c, d, e, f, g——为 Ga³⁺ 0.5、10、15、20、25、30 μL。

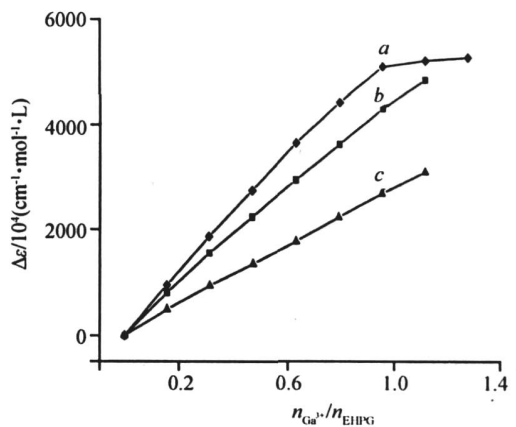


图 5 Ga³⁺ 对 EHPG 的紫外滴定曲线

曲线 a, b, c——r₁ 分别为 0, 15, 30。

3.3 Ga-EHPG 的条件稳定常数

由于配合物 Ga-EDTA 于 240nm 和 293nm 处的紫外吸收微弱, 可忽略不计, 因此滴定剂中竞争配体 EDTA 的引入并不影响配合物 Ga-EHPG 的光谱特征。相同条件下, 分别以不同 $n_{\text{EDTA}}/n_{\text{Ga}^{3+}}$ (r_1) 值的 Ga-EDTA 溶液代替 Ga³⁺ 溶液滴定 EHPG 并测定其紫外差光谱, 均在 240 和 293nm 处出现吸收峰, 由于 EDTA 与 EHPG 对 Ga³⁺ 竞争配位, 相同 Ga³⁺ 浓度下其最大吸光度值较未加 EDTA 时的低。将不同 r_1 值的 Ga-EDTA 溶液滴定 EHPG 时 240nm 处的表观摩尔吸光度对 Ga³⁺ 与 EHPG 的摩尔比作图, 可见滴定曲线初始部分斜率随 r_1 的增大而减小。设相同 Ga³⁺ 浓度下, EDTA 的引入导致表观摩尔吸光度的减小完全源于 Ga-EDTA 配合物的形成。则可使用式 (1) 计算每一滴定点的 Ga-EDTA, 进而可使用式 (2) — (6) 及已知的 Ga-EDTA 稳定常数 $K_{\text{Ga-EDTA}}$ ^[7] 和酸效应系数 α 计算每一滴定点的 $[\text{Ga-EHPG}]$, $[\text{Ga(III)}]_k$, $[\text{EHPG}]_k$ 。 (1) — (6) 式中 $[\text{Ga-EHPG}]$, $[\text{EHPG}]_k$, $[\text{EHPG}]_i$

分别为 Ga-EHPG 配合物的浓度、EHPG 的游离浓度以及 EHPG 的总浓度; $[Ga-EDTA]_k$ 、 $[EDTA]_k$ 、 $[EDTA]_t$ 分别为 Ga-EDTA 配合物的浓度、EDTA 的游离浓度以及 EDTA 的总浓度; ϵ_{Ga} 为 Ga-EHPG 配合物的摩尔吸光系数^[8]。由此可计算出 $\lg K_{Ga-EHPG} = 22.83$ 。

$$C_{Ga-EDTA} = [\epsilon_{bs}(a) - \epsilon_{bs}(b, c)] \cdot C_{EHPG} / \epsilon_{Ga} \quad (1)$$

$$C_{(EDTA)f} = C_{(EDTA)t} - C_{Ga-EDTA} \quad (2)$$

$$C_{Ga(III)f} = C_{Ga-EDTA} / C_{EDTAf} \cdot K_{Ga-EDTA} \cdot \alpha_{EDTA} \quad (3)$$

$$C_{Ga-EHPG} = \epsilon_{bs}(a, b, c) \cdot C_{(EHPG)t} / \epsilon_{Ga} \quad (4)$$

$$C_{(EHPG)f} = C_{(EHPG)t} - C_{Ga-EHPG} \quad (5)$$

$$K_{Ga-EHPG} = C_{Ga-EHPG} / [C_{Ga(III)f} \cdot C_{(EHPG)f}] \quad (6)$$

4 结论

Ga-EHPG 在 0.1 mol/L pH 7.2 的 Tris-HCl 缓冲溶液和室温条件下, Ga^{3+} 与 EHPG 结合形成 1/1 的配合物, 伴随有 310nm 处的荧光强度猝灭和 240nm、293nm 处吸收峰的出现以及 272nm 处负吸收峰的出现。通过计算可得: Ga-EHPG 的摩尔吸光系数 $\epsilon = 5.34 \times 10^3 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$, 条件稳定常数 $\lg K_{Ga-EHPG} = 22.83$ 。EHPG 在 310nm 荧光强度猝灭是芳香环酚羟基质子解离并与 Ga^{3+} 配位引起的。

参考文献

- [1] 杨斌盛, 丰九英. 稀土等离子与铁生物调控[J]. 化学进展, 2002, 14(4): 287—291.
- [2] 丰九英, 杨斌盛. Lu(III) 与 HBED、EHPG 结合的光谱研究[J]. 中国稀土学报, 2002, 20(6): 580—583.
- [3] 李英奇, 白海静, 杨斌盛. EHPG 与 Al(III) 结合的光谱研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2002, 22(3): 433—435.
- [4] 尹成先, 兰新哲, 霍春勇, 冯耀荣, 苏大雄. 钢的用途及提钢方法[J]. 有色金属, 2002, 54: 186—188.
- [5] 王金铃, 杨斌盛. Yb(III)、Gd(III) 与 EHPG 配合物的光谱研究[J]. 无机化学学报, 2002, 18(6): 577—581.
- [6] Zhao Y Q, Yang B S. Spectral Studies on the Interaction Between Lanthanum Ion and the Ligand: N,N'-Ethylenebis-[2-(o-Hydroxyphenolic) glycine][J]. *Spectrochim. Acta, Part A.*, 2005, 62(1—3): 641—644.
- [7] Martell A E, Smith R M. *Critical Stability Constants*[M]. New York: Plenum Press, 1974.
- [8] Wang Z J, Yang B S. UV and Fluorescence Spectral Changes Induced by Neodymium Binding of N,N'-Ethylenebis[2-(o-Hydroxyphenolic) Glycine] and N,N'-Di(2-Hydroxybenzyl) Ethylenediamine-N,N'-Diacetic Acid[J]. *Spectrochim, Acta, Part A.*, 2006, 65(3—4): 946—949.

Studies on the Interaction between Gallium Ion and N,N'-Ethylenebis-[2-(o-Hydroxyphenolic) Glycine] by Spectrometry

WANG Jun-Wei TIAN Yan-Ni ZHOU Bao-Juan YANG Bin-Sheng

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

Abstract The binding of Gallium to N,N'-ethylenebis[2-(o-hydroxyphenolic) glycine] (EHPG) was studied by means of fluorescence spectra and difference UV spectra. Fluorescence measurements show that Gallium binding to EHPG leads to a quenching of the fluorescence of EHPG at about 310nm. At the same conditions, two peaks at 240 and 293nm appeared in difference UV spectra.

after gallium ion binding to EHPG. The 1/1 stable Ga-EHPG complex can be confirmed from spectral titration curves and the molar extinction coefficient of the complex is $\epsilon = 5.41 \times 10^3 \text{ cm}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{L}$ at 240nm. Using EDTA as a competitor, the conditional equilibrium constants of the complex is $\lg K_{\text{Ga-EHPG}} = 22.83$ by calculation.

Key words EHPG, Ga^{3+} , Fluorescence Spectra, Difference UV spectra

邮 票 上 的 科 学 家

——佼佼者之路

周开亿

(北京市学院南路 76 号 35 楼 204 室 100081)

前 言

我在北京的碧云寺、武汉的归元寺、杭州的净慈寺和成都的宝光寺都见到了一种“神仙”聚会的地方——“罗汉堂”，数百位雕塑得栩栩如生、形态各异的罗汉“欢聚”一堂，让参观者仿佛置身于众神仙的保佑之中，从而得到了安全感、满足感和幸福感。

在古代，由于生产力低下，人类同自然灾害搏斗的能力较低，因而产生了对菩萨、上帝等神仙的信仰。那些所谓正直善良、普渡众生的罗汉就是神仙的一种化身，是人类祈求平安和幸福的精神依托。然而，在今天看来，真正“保佑”人类平安和幸福的“神仙”，不是供奉在庙堂中的什么罗汉，而是古今中外在科学实验中辛勤劳作的科学家。因为他们的发明创造在一定程度上认识、开拓和协调了自然，才造就了世界今日的繁荣，“保佑”了人类的平安和幸福。科学家为人类谋利益而专心致志、刻苦“修行”、搞发明创造的精神，才是真正值得我们瞻仰、学习和纪念的。

同雕塑一样，邮票也是一种艺术作品。把纪念科学家的邮票收集起来，配上这些科学家的个性和成就的简介，汇编成册，不也是可以成为一种“陈列”在“画册”中的“罗汉堂”吗？通过观赏和学习，我们可以继承、发扬科学家的创新精神，吸取他们的经验和教训，成为所在行业的佼佼者，为构造明日更加美好的世界充实自己的力量和智慧。

从这些纪念科学家的邮票以及他们的个性和成就，我们可以清楚的看出科学发明是没有国界的，科学发明是艰苦求索的结晶，除了“为伊消得人憔悴”之外，没有其他捷径可走。热情、幻想以至整个身心去渴求，都不能代替劳动，世界上从来没有一种创造发明是轻而易举就可得到的。另外，我们还可以从中认识到，即使是被称为天才的科学家也不是神，而是人。一方面他们为人类社会的发展作出了成就，谱写出催人泪下的一篇篇英雄史诗；另一方面，他们也难免做一些傻事、错事，甚至坚持错误。但当我们了解了他们的抱负，懂得了他们的心灵时，就会发觉他们傻得多么可爱、傻得多么投入。正是由于他们把自己的全部身心都贯注在科学事业上，有了发明创造，人类才会安享今天这样舒适的生活。他们是“盗取天火”的、真正的普罗米修斯(Prometheus)。

为此，我收集、复制了 529 位古今中外的科学家(其中获诺贝尔奖的科学家有 190 位)的纪念邮票，配上这些科学家的个性和成就的简介，构成《邮票上的科学家——佼佼者之路》一文，奉献给有兴趣的朋友。若本文能既有知识性，又有艺术性，既有学术性，又有趣味性，那就是我的最大愿望了。