

# 双核铜配合物的结构和 SOD 活性及电化学性质

栾锋平, 向爱华, 李庆祥\*

(武汉工程大学化工与制药学院, 绿色化工过程省部共建教育部重点实验室, 湖北 武汉 430074)

**摘 要:**合成了双核铜配合物 $[\text{Cu}_2^{\text{II}}(\text{ENOTA})] \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ {ENOTA 为 1,2-二[4,7-二(羧甲基)-1,4,7-三氮环壬烷]乙烷双环配体},研究了该双核配合物的超氧化物歧化酶活性及电化学性质,并初步阐明了其催化机理.

**关键词:**1,4,7 三氮环壬烷;双核铜配合物;晶体结构;超氧化物歧化酶;电化学性质

**中图分类号:**O614.8<sup>+</sup>2

**文献标识码:**A

**doi:**10.3969/j.issn.1674-2869.2011.09.004

## 0 引 言

超氧离子自由基( $\cdot\text{O}_2^-$ )是生物体在利用氧的过程中细胞有氧呼吸的产物<sup>[1]</sup>,它在生物体内累积过量会引起细胞损伤,诱发各种与活性氧物种相关的疾病.例如:肌萎性脊髓侧索硬化症、帕金森综合症、缺血再灌性损伤、癌症、糖尿病及关节炎等<sup>[2-5]</sup>.超氧化物歧化酶(SOD)能催化 $\cdot\text{O}_2^-$ 歧化为过氧化氢和氧气,将生物体内的 $\cdot\text{O}_2^-$ 控制在有利无害的低浓度<sup>[6]</sup>,使细胞免遭 $\cdot\text{O}_2^-$ 的侵害,具有潜在的药用价值.但是,天然 SOD 提取困难、分离成本高、稳定性低、对细胞不可渗透.这些缺点限制了天然 SOD 的临床应用.寻找具有潜在药用价值的高活性、高稳定性和低毒性的小分子 SOD 模拟物是生物无机化学工作者面临的挑战.近年来,由于 1,4,7-三氮环壬烷及其衍生物可以形成非常稳定的配合物引起了人们的兴趣<sup>[7-10]</sup>,特别是其单核配合物作为 SOD 模拟物方面已有较多文献报道<sup>[11-13]</sup>,而其双核或多核配合物作为 SOD 模拟物的报道却较少.本课题组在研究化合物乙酸悬臂乙基桥联双环 1,4,7-三氮环壬烷的双核铜配合物 $[\text{Cu}_2^{\text{II}}(\text{ENOTA})] \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 结构时发现(配体结构见图 1),该配合物的两个铜离子的配位环境与天然  $\text{Cu}_2\text{Zn}_2\text{SOD}$  的活性中心  $\text{Cu}(\text{II})$  的配位环境较接近<sup>[14]</sup>,为畸变的四方锥构型.本研究对该配合物的超氧化物歧化酶(SOD)活性和电化学性质进行了研究,并初步阐明了其催化机理.

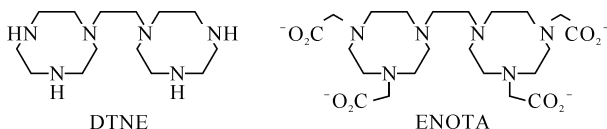


图 1 配体 DTNE 和 ENOTA 的结构式

Fig. 1 The structural formulas of ligand DTNE and ENOTA

## 1 实验部分

### 1.1 原料与仪器

所用试剂和溶剂除核黄素、蛋氨酸、氯化硝基四氮唑蓝(NBT)为 BR 级外,其余均为分析纯.所用水为二次蒸馏水,配体 1,2-二(1,4,7-三氮环壬烷)乙烷氢溴酸盐(DTNE $\cdot 6\text{HBr}$ )根据文献报道的方法合成<sup>[15]</sup>.元素分析在 240C 型元素分析仪上完成;红外光谱用 KBr 压片后在 Nicolet 5DX FT-IR 型红外光谱仪上记录;X-射线衍射数据搜集在德国 Bruker SMART-APEX CCD 单晶衍射仪上进行;循环伏安在 273-型电化学仪上测定型电化学仪上测定.

### 1.2 配合物的合成<sup>[16]</sup>

配体 1,2-二(1,4,7-三氮环壬烷)乙烷氢溴酸盐(DTNE $\cdot 6\text{HBr}$ )200 mg(0.26 mmol)溶于 5 mL 水中,加入 100 mg(1.05 mmol)氯乙酸的水溶液(3 mL),用 0.1 mol $\cdot\text{L}^{-1}$ 的 NaOH 水溶液调 pH 至 11,80 $^{\circ}\text{C}$ 下加热 60 h,期间补充 NaOH 水溶液维持 pH=11.溶液冷却后,加入 192 mg(0.52 mmol)  $\text{Cu}(\text{ClO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  的水溶液(2 mL),再加入 25 mL 无水乙醇,室温搅拌 3 h 后过滤,滤液室温挥发,析出适合 X 射线结构分析的蓝色晶体.收率:47 mg

收稿日期:2011-08-28

基金项目:湖北省教育厅科学技术研究项目(No. D20111501),国家自然科学基金资助项目(20571058).

作者简介:栾锋平(1987-),男,湖北武汉人,硕士研究生.研究方向:生物无机化学.

指导老师:李庆祥,教授,博士,硕士研究生导师.研究方向:生物无机化学和有机合成化学.\* 通信联系人

(25%). IR(KBr)  $\nu$ : 3 464, 1 625, 1 350 691  $\text{cm}^{-1}$ .  
Anal. calcd for  $\text{C}_{22}\text{H}_{46}\text{Cu}_2\text{N}_6\text{O}_{13}$ : C 36. 21, H 6. 35, N 11. 52; found C 36. 39, H 6. 42, N 11. 25.

1.3 配合物晶体结构的测定

选取尺寸为 0. 21 mm×0. 20 mm×0. 19 mm 的化合物的蓝色单晶, 数据搜集在 SMART-CCD

面探衍射仪上进行, 用 SMART 和 SAINT 程序进行数据还原和晶胞精修, 晶体结构用直接法解出, 所有非氢原子都用全矩阵最小二乘法对 F2 各向异性修正(Bruker Shelxtl)<sup>[17]</sup>. 氢原子通过理论加氢加上. 有关晶体学数据见表 1.

CCDC:777328

表 1 配合物[Cu<sub>2</sub><sup>II</sup>(ENOTA)]·5H<sub>2</sub>O 的晶体学数据

Table 1 Crystallographic data for the complex[Cu<sub>2</sub><sup>II</sup>(ENOTA)]·5H<sub>2</sub>O

分子式	$\text{C}_{22}\text{H}_{46}\text{Cu}_2\text{N}_6\text{O}_{13}$		$\gamma/^\circ$	90. 00
分子量	729. 73	$V/\text{nm}^3$	2. 867 6(6)	
晶系	Monoclinic	$Dc/(\text{g}\cdot\text{cm}^{-3})$	1. 690	
颜色/形状	Blue/block	Z	4	
收集 $\theta$ 角花围( $^\circ$ )	1. 56~26. 00	吸收系数/ $\text{mu}^{-1}$	1. 560	
空间群	P2(1)/c	$F(000)$	1 528	
$a/\text{nm}$	1. 349 02(10)	总衍射数目	15 933	
$b/\text{nm}$	1. 493 23(11)	参加精修的衍射数目	5 628( $R_{\text{int}}=0. 112\ 3$ )	
$c/\text{nm}$	1. 468 4(3)	$R_1, wR_2(I>2\sigma(I))$	0. 055 9, 0. 125 9	
$\alpha/^\circ$	90. 00	$R_1, wR_2(\text{all data})$	0. 129 7, 0. 141 6	
$\beta/^\circ$	104. 189(6)	最大电子密度峰值和洞值/( $\text{e}\cdot\text{nm}^{-3}$ )	1 322, 795	

1.4 SOD 活性的测定

利用光还原核黄素法测定其活性<sup>[18]</sup>, 受光照的溶液用 pH 为 7. 4 的混合磷酸钾缓冲溶液配制, 溶液包括核黄素 ( $3. 40\times 10^{-6}\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ ), 蛋氨酸 ( $0. 01\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ ), 氯化硝基四氮唑蓝 (NBT) ( $4. 66\times 10^{-5}\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ ). 配合物( $[\text{Cu}_2^{\text{II}}(\text{ENOTA})]\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ )浓度在  $10^{-4}\sim 10^{-6}\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  范围内. 将配好的溶液于 25  $^\circ\text{C}$  在恒定光强度下进行光照, 在波长  $\lambda$  为 560 nm 处测定不同时间溶液的吸光度. 抑制百分数( $f\%$ )根据文献方法算出<sup>[9]</sup>. 活性定义为抑制百分数为 50% 时配合物的浓度.

1.5 电化学研究

循环伏安用 273-型电化学分析仪测定. 支持电解质是  $0. 1\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  的  $\text{NaClO}_4$  的水溶液, 测定前溶液中通入高纯氮气 15 min 以除去其中氧. 用三电极系统在氮气气氛中测定, 其中, 玻碳电极作工作电极, Ag/AgCl 电极作参比电极, 铂丝作对电极. 测定溶液浓度为  $1. 0\times 10^{-3}\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ , 温度为  $(25\pm 0. 1)^\circ\text{C}$ . 半波电位  $E_{1/2}$  用  $(E_{\text{pa}}+E_{\text{pc}})/2$  近似计算.

2 结果与讨论

2.1 晶体结构

配合物晶体结构见图 2, 部分键长、键角见表 2, 从晶体结构图 2 可知, 两个 Cu(II) 离子分别位于畸变四方锥配位环境的中心, 来自三氮环的两个氮原子和来自两个羧酸悬臂的氧原子构成四方锥的底面, 桥头

氮原子占据了四方锥的顶角. Cu(1) 和 Cu(2) 分别偏离四方锥底面 0. 025 04 和 0. 023 55 nm, 两个底面的标准偏差分别为 0. 008 83 和 0. 008 93 nm. Cu(1) 与四方锥顶点原子之间的距离 (Cu(1) — N(3) 键长) 为 0. 022 01(4) nm, 长于与四方锥底面的四个原子之间的距离 0. 019 23(4)~0. 019 98(5) nm. Cu(2) 与四方锥顶点原子(N(4))之间的距离 0. 022 37(5) nm 也长于与四方锥底面四个原子之间的距离 0. 019 17(4)~0. 020 04(5) nm. 两个铜原子之间的距离为 0. 747 nm. 该配合物中, 两个中心铜离子的配位环境与天然  $\text{Cu}_2\text{Zn}_2\text{SOD}$  的活性中心 Cu(II) 的配位环境较接近, 在天然  $\text{Cu}_2\text{Zn}_2\text{SOD}$  中, 活性中心 Cu(II) 与来自四个组氨酸的咪唑氮原子和一个氧原子的配位, 形成一个畸变的四方锥构型<sup>[14]</sup>.

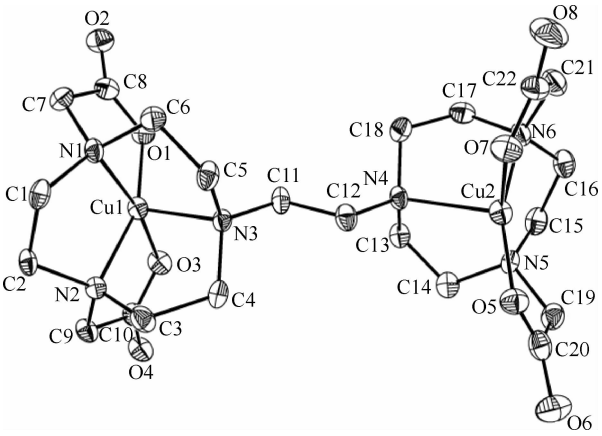


图 2 [Cu<sub>2</sub><sup>II</sup>(ENOTA)] 的晶体结构

Fig. 2 Crystal structure of  $[\text{Cu}_2^{\text{II}}(\text{ENOTA})]$

2.2 SOD 活性

利用光还原核黄素法测定了在 pH=7.4 条件下配合物 $[\text{Cu}_2^{\text{II}}(\text{ENOTA})] \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 的活性,该方法是通过不同浓度的配合物对氯化硝基四氮唑蓝(NBT)还原的抑制作用不同来测定的.不同浓度的配合物对 NBT 还原的抑制百分数作图得图 3,当抑制 50%时配合物浓度为其活性  $\text{IC}_{50}$ ,从图 3 可读出其  $\text{IC}_{50}$  为  $1.53\text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$ ,显示该配合物的催化歧化超氧自由基的活性较高.这可能是中心铜离子的配位环境与天然  $\text{Cu}_2\text{Zn}_2\text{SOD}$  的活性中心  $\text{Cu}(\text{II})$  的配位环境较接近的原因.当然,在人工模拟物中该配合物虽然活性较高,但与天然

$\text{Cu}_2\text{Zn}_2\text{SOD}$  的催化活性 ( $\text{IC}_{50} = 0.06\text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$ )<sup>[11]</sup> 相比仍然相差较大.

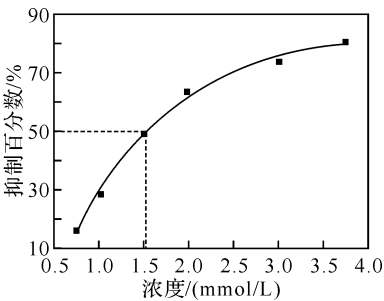


图 3  $[\text{Cu}_2^{\text{II}}(\text{ENOTA})] \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  的 SOD 活性

Fig. 3 The SOD activity of  $[\text{Cu}_2^{\text{II}}(\text{ENOTA})] \cdot 5\text{H}_2\text{O}$

表 2  $[\text{Cu}_2^{\text{II}}(\text{ENOTA})] \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  的部分键长、键角

Table 2 Selected bond lengths (nm) and bond angles (o) for  $[\text{Cu}_2^{\text{II}}(\text{ENOTA})] \cdot 5\text{H}_2\text{O}$

Cu(1)-N(1)	0.197 0(5)	Cu(1)-N(2)	0.199 8(5)	Cu(1)-O(1)	0.192 5(4)
Cu(1)-O(3)	0.192 3(4)	Cu(1)-N(3)	0.220 1(4)	Cu(2)-N(5)	0.197 0(5)
Cu(2)-N(6)	0.200 4(5)	Cu(2)-O(5)	0.192 8(4)	Cu(2)-O(7)	0.191 7(4)
Cu(2)-N(4)	0.223 7(5)	O(1)-Cu(1)-O(3)	97.82(18)	O(3)-Cu(1)-N(1)	169.26(18)
O(1)-Cu(1)-N(1)	85.31(19)	O(3)-Cu(1)-N(2)	86.05(17)	O(1)-Cu(1)-N(2)	159.31(18)
N(1)-Cu(1)-N(2)	87.50(18)	O(3)-Cu(1)-N(3)	103.13(17)	O(1)-Cu(1)-N(3)	113.05(17)
N(1)-Cu(1)-N(3)	84.90(18)	N(2)-Cu(1)-N(3)	85.52(18)	O(7)-Cu(2)-O(5)	98.03(19)
O(7)-Cu(2)-N(5)	170.06(19)	O(5)-Cu(2)-N(5)	85.35(19)	O(7)-Cu(2)-N(6)	86.4(2)
O(5)-Cu(2)-N(6)	160.06(19)	N(5)-Cu(2)-N(6)	87.4(2)	O(7)-Cu(2)-N(4)	103.36(18)
O(5)-Cu(2)-N(4)	113.25(18)	N(5)-Cu(2)-N(4)	83.67(18)	N(6)-Cu(2)-N(4)	84.28(19)

2.3 配合物的电化学性质

图 4 为配合物 $[\text{Cu}_2^{\text{II}}(\text{ENOTA})] \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 的循环伏安图.从图中可知,配合物有两对氧化还原峰,第一对峰电位为  $E_{\text{pa}} = 79\text{ mV}$  和  $E_{\text{pc}} = -27\text{ mV}(\text{Ag}/\text{AgCl})$ ,半波电位  $E_{1/2}^1 = 26\text{ mV}$ ,两峰差值  $= 106\text{ mV}$ ,对应  $\text{Cu}^{\text{II}} + \text{e}^- \rightarrow \text{Cu}^{\text{I}}$  电极过程.第二对峰电位为  $E_{\text{pa}} = -645\text{ mV}$  和  $E_{\text{pc}} = -751\text{ mV}((\text{Ag}/\text{AgCl}))$ ,两峰差值  $= 106\text{ mV}$ ,半波电位  $E_{1/2}^2 = -698\text{ mV}$ .对应  $\text{Cu}^{\text{I}} + \text{e}^- \rightarrow \text{Cu}^0$  电极过程.文献报道<sup>[19]</sup>,  $\text{O}_2 + \text{e}^- \rightarrow \cdot \text{O}_2^-$ ,  $E_{\text{pH}7}^\circ = -160\text{ mV}(\text{NHE})$ ;  $\cdot \text{O}_2^- + 2\text{H}^+ + \text{e}^- \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2$ ,  $E_{\text{pH}7}^\circ = +890\text{ mV}(\text{NHE})$ .因此,金属配合物的电位  $-160\text{ mV}(\text{NHE}) < E^\circ < +890\text{ mV}(\text{NHE})$  时,可作为超氧化物歧化酶模型物.配合物  $[\text{Cu}_2^{\text{II}}(\text{ENOTA})] \cdot 5\text{H}_2\text{O}$   $E_{1/2}^1 = 248\text{ mV}(\text{NHE})$ ,在其范围内,故可作为超氧化物歧化酶模型物.第二对峰  $E_{1/2}^2 = -476\text{ mV}(\text{NHE})$ . $\cdot \text{O}_2^-$  不能将  $\text{Cu}^{\text{I}}$  还原成  $\text{Cu}^0$ ,故催化反应在  $\text{Cu}^{\text{II}}$  和  $\text{Cu}^{\text{I}}$  之间循环,即配合物是通过  $\text{Cu}^{\text{I}}$  机理催化歧化  $\cdot \text{O}-2$  的.因此,可推测其催化机理为:  $\text{Cu}^{\text{II}} + \cdot \text{O}_2$ ;  $\text{Cu}^{\text{I}} + \text{O}_2$ ;  $\text{Cu}^{\text{I}} + \text{O}_2 + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{Cu}^{\text{II}} + \text{H}_2\text{O}_2$ .

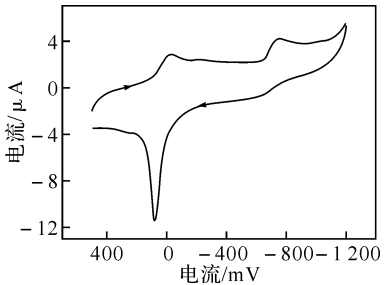


图 4  $[\text{Cu}_2^{\text{II}}(\text{ENOTA})] \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  在水溶液中的循环伏安图

Fig. 4 Cyclic voltammogram of  $[\text{Cu}_2^{\text{II}}(\text{ENOTA})] \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  in aqueous solution. Concentration:  $1.0 \times 10^{-3}\text{ mol dm}^3$

注:扫速:  $100\text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ ;参比电极为  $\text{Ag}/\text{AgCl}$ .

参考文献:

[1] McCord J M, Fridovich I. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocuprein (hemocuprein) [J]. J Biol Chem, 1969, 244: 6049-6055.

[2] Jiang W, Shen T, Han Y C, et al. Divalent-metal-dependent nucleolytic activity of Cu, Zn superoxide dismutase [J]. J Bio Inorg Chem, 2006, 11: 835-848.

[3] Scarpellini M, Wu A J, Kampf J W, et al. Corroborative Models of the Cobalt(II) Inhibited Fe/Mn Superoxide Dismutases [J]. Inorg Chem, 2005,

- 44:5001-5010.
- [4] Grove L E, Hallman J K, Emerson J P, et al. Synthesis, X-Ray Crystallographic Characterization, and Electronic Structure Studies of a Di-Azide Iron (III) Complex; Implications for the Azide Adducts of Iron(III) Superoxide Dismutase [J]. Inorg Chem, 2008, 47: 5762-5774.
- [5] 汪立耀. 超氧化物歧化酶的制备及其临床应用[J]. 武汉化工学院学报, 2003(4): 16-18.
- [6] Valentine J S, Freitas D M. Copper-Zinc Superoxide Dismutase. A Unique Biological "Ligand" for Bioinorganic Studies [J]. J Chem Educ, 1985, 62: 990-997.
- [7] Zhang Z, Geng Z R, Kan X W, et al. Iron(III), nickel (II) and cadmium(II) complexes of triazamacrocyclic ligand with pendant nitrile groups 1, 4, 7-tris (cyanomethyl)-1, 4, 7-triazacyclononane; Synthesis, structural characteristics and artificial nuclease activity[J]. Inorg Chim Acta, 2010, 363: 1805-1812.
- [8] Wainwright K P. Synthetic and structural aspects of the chemistry of saturated polyaza macrocyclic ligands bearing pendant coordinating groups attached to nitrogen[J]. Coord Chem Rev, 1997, 166: 35-90.
- [9] Grove L E, Hallman J K, Emerson J P, et al. Synthesis, X-Ray Crystallographic Characterization, and Electronic Structure Studies of a Di-Azide Iron (III) Complex; Implications for the Azide Adducts of Iron(III) Superoxide Dismutase [J]. Inorg Chem, 2008, 47: 5762-5774.
- [10] Mewis R E, Archibald S. Biomedical applications of macrocyclic ligand complexes[J]. Coord Chem Rev, 2010, 254: 1686-1712.
- [11] Li Q X, Luo Q H, Li Y Z, et al. A study on the mimics of Cu-Zn superoxide dismutase with high activity and stability: two copper(II) complexes of 1, 4, 7-triazacyclononane with benzimidazole groups [J]. Dalton Trans, 2004: 2329-2335.
- [12] Li Q X, Wang X F, Cai L, et al. Crystal structure, superoxide dismutase activity and electrochemical property of complex  $[Cu(dtn)] \cdot (ClO_4)_2 \cdot CH_3CH_2OH$  [J]. Inorg Chem Commun, 2009, 12: 145-147.
- [13] Li Q X, Luo Q H, Li Y Z, et al. Shen M C. Studies on Manganese(II) Complexes of N-Benzimidazole-Functionalized 1, 4, 7-Triazacyclononane; Crystal Structures, Properties and Combined Superoxide Dismutase and Catalase Functions[J]. Eur J Inorg Chem, 2004, 22: 4447-4456.
- [14] Tainer J A, Getzoff E D, Beem K M, et al. Determination and analysis of the 2 A-structure of copper, zinc superoxide dismutase[J]. J Mol Biol, 1982, 160: 181-217.
- [15] Sessler J L, Sibert J W, Lynch V. Model studies related to hemerythrin. Synthesis and characterization of a bridged tetranuclear iron(III) complex[J]. Inorg Chem, 1990, 29: 4143-4146.
- [16] Fry F H, Graham B, Spiccia L, et al. Binuclear copper complexes of bis(1, 4, 7-triazacyclonon-1-yl) ligands incorporating acetate pendant arms [J]. J Chem Soc, Dalton Trans, 1997: 827-832.
- [17] Sheldrick G M. SHELXTL V5. 1 Software Reference Manual[M]. Madison: Bruker AXS, Inc, 1997.
- [18] Luo Q H, Lu Q, Dai A B, et al. A study on the structure and properties of a new model compound of Cu(II)-Zn(II)-superoxide dismutase[J]. J Inorg Biochem, 1993, 51: 655-662.
- [19] Sawyer D T, Valentine J S. How super is superoxide? [J]. Acc Chem Res, 1981, 14(12): 393-400.

## Structure and superoxide dismutase activity and electrochemical property of binuclear copper(II) complex

LUAN Feng - ping , XIANG Ai - hua , LI Qing - xiang \*

(School of Chemical Engineering and Pharmacy, Wuhan Institute of Technology,

Key Laboratory for Green Chemical Process of Ministry of Education, Wuhan 430074, China)

**Abstract:** A binuclear copper complex  $Cu_2^{II}(ENOTA) \cdot 5H_2O$  ( $ENOTA = 1, 2$ -bis (4, 7-bis (carboxymethyl)-1, 4, 7-triazacyclonon-1-yl) ethane) was synthesized in this article. The superoxide dismutase activity and electrochemical property of the complex had been researched.

**Key words:** 1, 4, 7-triazacyclononane; binuclear copper (II) complex; crystal structure; superoxide dismutase; electrochemical properties