

文章编号: 1001-7453(1999)03-0033-04

甘氨酸及其小肽配合物的 pH 电位法研究

张晓鸣¹, 章克昌²

(1. 无锡轻工大学食品学院, 江苏无锡 214036; 2. 无锡轻工大学生物工程学院, 江苏无锡 214036)

摘要: 利用 pH 电位法研究了甘氨酸及其二、三肽与锌、铜元素的配位作用, 测定了相应的配合稳定常数, 结果表明, 氨基酸和二、三肽的配合行为不同, 而小肽之间配位作用基本相似。pH 电位法研究还表明, 铜与肽的配合过程中存在着明显的晶体场稳定化能效应, 表现在配合滴定过程中出现特征颜色变化(双缩脲反应)。

关键词: 甘氨酸; 二肽; 三肽; 配合物; pH 电位法

中图分类号: O611.662 文献标识码: A

矿物元素蛋白盐是指元素周期表中第一过渡金属元素系列中的某一种元素与氨基酸或小肽(主要是二、三肽)结合形成的配合物, 一般是可溶性金属盐与部分水解的蛋白质进行配位反应的产物。

矿物元素蛋白盐由于具有特殊的转运机制及生物活性, 在生物无机化学、动物营养学、临床医学及药物化学等领域正变得越来越重要。

作者通过对有代表性的甘氨酸以及甘氨酸组成的二肽、三肽和典型的过渡金属元素铜、锌的配合行为的研究, 比较深入地了解小肽和氨基酸配合物的稳定性以及结构特征, 为利用蛋白水解物制备矿物元素蛋白盐提供了一些依据。

1 材料与方 法

1.1 试剂

Gly-Gly-Gly 生化纯 上海市化学工业学校实验工厂提供;
Gly-Gly-Gly 生化纯 Sigma 公司产品。

1.2 仪器

PHS-2C 型精密酸度计 上海雷磁仪器厂制。

1.3 分析方法

1.3.1 铜元素含量 石墨炉原子吸收分光光度法^[1];

1.3.2 锌元素含量 EDTA 标定法^[2];

收稿日期: 1999-01-21; 修订日期: 1999-03-21

基金项目: 江苏应用基础研究(BJ95087)

作者简介: 张晓鸣(1965年10月生), 男, 江苏无锡人, 工学博士, 副教授。

1.3.3 配合物稳定常数测定 Bjerrum函数半整数法和 Rossetti图解法^[3].

2 结果与讨论

2.1 甘氨酸及其小肽解离常数的测定

从电位滴定数据得到 3种配体的解离常数, 见图 1.

$$\text{Gly } pK(-\text{NH}_3^+) = 9.6$$

$$\text{Gly-Gly } pK(-\text{NH}_3^+) = 8.09$$

$$\text{Gly-Gly-Gly } pK(-\text{NH}_3^+) = 7.95$$

该结果和文献报道值基本一致^[4-6].

2.2 甘氨酸及其小肽与锌元素的配合行为

图 2,3分别是配位比为 1:1和 2:1时 Gly, Gly-Gly, Gly-Gly-Gly和锌离子的配合滴定曲线 ($C_{\text{Zn}} = 1 \text{ mmol/L}$).

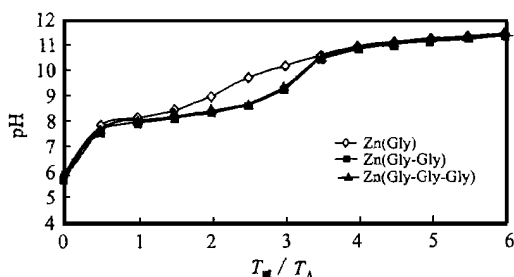


图 2 1:1配位锌配合物 pH电位滴定曲线

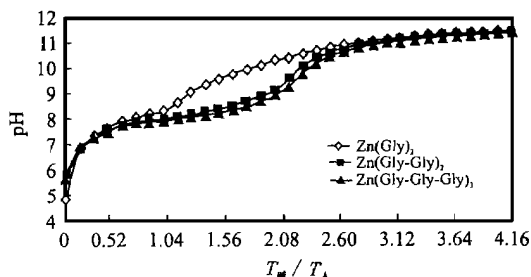


图 3 2:1配位锌配合物 pH电位滴定曲线

从图上看,小肽和氨基酸的配合行为有所区别,小肽之间则差别不大.由电位滴定数据得到的配合物逐级稳定常数如表 1所示,稳定常数反映出二肽和三肽的配合行为基本相似,稳定常数在同一数量级,而氨基酸的配合稳定常数在稀溶液情况下明显大于小肽配合物的.甘氨酸和小肽的配合功能基团不同,甘氨酸以末端氨基和羧基参与螯合,形成反式二肽类似物结构,而小肽以末端氨基和肽键氧参与螯合^[7].

2.3 甘氨酸及其小肽与铜元素的配合行为

图 4,5分别是配位比为 1:1和 2:1时 Gly, Gly-Gly, Gly-Gly-Gly和铜离子的配合滴定曲线 ($C_{\text{Cu}} = 1 \text{ mmol/L}$).

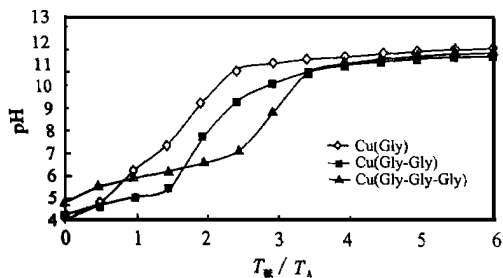


图 4 1:1配位铜配合物 pH电位滴定曲线

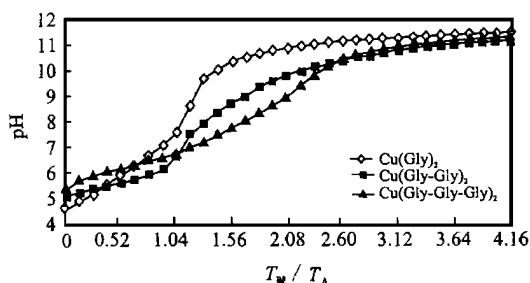


图 5 2:1配位铜配合物 pH电位滴定曲线

在图 4 中,甘氨酸铜配合物的滴定曲线其滴定突跃的拐点在加碱量达到 $T_{碱}/T_A = 1$ 时,二肽与铜的配合物其滴定突跃拐点在 $T_{碱}/T_A = 2$ 时,三肽与铜的配合物滴定突跃拐点在 $T_{碱}/T_A = 3$ 时,这一现象说明在肽和铜的配合过程中,存在着 Cu^{2+} 在强场配体(肽键氮)取代了弱场配体(水合氧)后增加的晶体场稳定化能(CFSE),由于 Cu^{2+} 取代了肽键氮结合的质子,在肽铜配合物溶液中,就比氨基酸铜配合物额外地增加了 H 的释放,滴定突跃的拐点就延迟,二肽铜配合物多 1 个肽键,三肽铜配合物多 2 个肽键,相应的拐点就延迟到加碱量 2 倍和 3 倍处.这个过程可用下面的公式来表示:

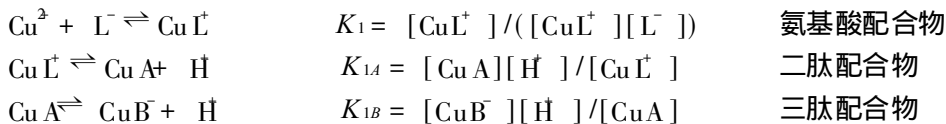


图 5 中,甘氨酸铜配合物的滴定曲线其突跃点在加碱量达到 $T_{碱}/T_A = 1$ 时,此时溶液中中和的甘氨酸与 Cu^{2+} 的物质的量之比为 2:1,说明形成了 $Cu(Gly)_2$ 配合物;二肽与铜的配合物其滴定突跃点在 $T_{碱}/T_A = 1$ 时,甘氨酸二肽溶液中中和的质子与 Cu^{2+} 的物质的量之比为 2:1;三肽与铜的配合物其滴定突跃点在 $T_{碱}/T_A = 1.5$ 时,甘氨酸三肽溶液中中和的质子与 Cu^{2+} 的物质的量之比为 3:1.由此可见,配位比增大后甘氨酸二肽和三肽在与 Cu^{2+} 配合时,配体利用率并不象甘氨酸那样相应地成倍增加,而是由于 CFSE 效应通过末端氨基、肽键氮以及羧基氧和 Cu^{2+} 形成 1:1 配位的配合物.

在铜与三肽的配合过程中,各种配位比都有相同的现象,pH 在 5.90 以前溶液呈蓝色,随着 pH 升高,蓝色加深,并逐渐变色,至 pH 为 6.62~6.64 左右时溶液突变为紫色,以后逐渐变为品红色.这个现象和配合过程中配合物的结构随 pH 的变化而发生改变有关.

铜与 3 种配体形成的配合物的稳定常数计算结果见表 1.肽与铜的配位作用由于 CFSE 的存在,肽键氮释放质子后参与配位,使配合过程变得非常复杂,不能按一般方法计算其逐级稳定常数,所以表中只列出了一级稳定常数 $\lg K_1$.

表 1 甘氨酸和甘氨酸二、三肽配合物稳定常数

配体	稳定常数	Bjerrum 半整数法		Rosotti 图解法		文献值 ^[4,8]	
		Zn	Cu	Zn	Cu	Zn	Cu
Gly	$\lg K_1$	5.43	8.18	5.27	8.11	5.52	8.62
	$\lg K_2$	-	7.07	4.48	7.03	4.44	6.97
Gly-Gly	$\lg K_1$	3.79	6.49	3.46	-	3.80	6.04
	$\lg K_2$	-	-	3.32	-	2.77	-
Gly-Gly-Gly	$\lg K_1$	3.63	5.74	3.37	-	3.33	5.50
	$\lg K_2$	-	-	3.00	-	2.99	-

3 结 论

利用 pH 电位法研究了甘氨酸及其二、三肽与锌、铜元素的配位作用,测定了相应的配合稳定常数,结果表明,氨基酸和二、三肽的配合行为不同,而小肽之间配位作用基本相似,是由于空间位阻效应,肽的末端羧基一般不参与螯合作用,而主要由肽键氧和肽键氮参与作用.在稀溶液中,氨基酸锌配合物的配合稳定常数明显大于肽锌配合物,而二、三肽与锌的配合稳定常数在同一数量级,铜与肽的配合过程存在明显的 CFSE 效应,小肽通过末端氨基、肽键氧以及羧基氧和 Cu^{2+} 趋于形成 1:1 配位的配合物.

参考文献:

- [1] 宁开桂.实用饲料分析方法手册 [M].北京:中国农业科技出版社,1993.
- [2] 全国饲料标准化技术委员会. GB 8251-87,硫酸锌标准 [S].
- [3] 徐志固.现代配位化学 [M].北京:化学工业出版社,1987.
- [4] KIM M K, MARTELL A E. Copper(II) complexes of triglycine and tetraglycine[J]. Am Chem Soc, 1965, 88 914~ 918
- [5] BRUCE MARTIN R, MICHAEL CHAMBERLIN, JOHN T EDSALL. The association of nickel(II) ion with peptides[J]. J Am Chem, 1959, 82 495- 498
- [6] 沈同,王镜岩.生物化学 [M].北京:高等教育出版社,1990.
- [7] GUNTHER L E. Inorganic Biochemistry Volume I[M]. Amsterdam: Elsevier Scientific Company, 1973.
- [8] DEW AYNE A H, DARRELL J, GRAFF H, et al. Intestinal absorption of metal ions and chelates [M]. Springfield Charles C Thomas Publisher, 1985.

Study on Metal Complexes of Glycine and Glycine Peptides by pH Potentiometric Method

ZHANG Xiao-ming¹, ZHANG Ke-chang²

(1. School of Food Science and Technology, Wuxi University of Light Industry, Wuxi 214036; 2. School of Bioengineering, Wuxi University of Light Industry, Wuxi 214036)

Abstract Glycine and glycine peptides and their complexes with zinc(II) and copper(II) have been studied by pH potentiometric method. The stability constants for complexes were determined and the results showed that coordination existed in metal complexes of diglycine and triglycine were quite similar, which differed from that in metal glycine complexes. 1 additional equivalent base per copper(II) ion were titrated in diglycine and 2 in triglycine, as well as the characteristic color change (the "biuret reaction") when peptides were titrated with base in the presence of copper(II) indicated that CFSE existed in copper(II) complexes of glycine peptides.

Key words glycine; diglycine; triglycine; complex; pH potentiometric method