

等离子点时 Mn(II)-HSA 金属中心的结构*

Structure of the Mn(II)-HSA Metal Center at the Isoionic Point

杨勇飞** 梁 宏 俞丽娟 罗锦新 周永洽***
Yang Yongfei Liang Hong Yu Lijuan Luo Jinxin Zhou Yongqia

(广西师范大学化学系 桂林三里店 541004)

(Department of Chemistry, Guangxi Normal University, Shanlidian, Guilin, Guangxi, 541004)

摘要 用紫外光谱研究了等离子点时 Mn(I)-HSA (Human serum albumin) 金属中心的结构。结果表明: Mn(I)-HSA 金属中心的配位结构为规则或不规则的四方锥形构型, 与生理 pH 下存在四方锥→四方平面构型转变不同。Mn(I)的结合位置仍在 HSA 的 N 端三肽段, 与 Asp¹ 的 α-NH₂, His³ 的咪唑基 N 及两个去质子肽氮配位。用配位环境差异可对这两种 pH 条件下的不同结果进行解释。

关键词 Mn(I)-HSA 等离子点 LMCT 谱带 光学电负性

Abstract The structure of the Mn(I)-HSA (Human serum albumin) metal center at the isoionic point have been studied by ultraviolet spectroscopy. It showed that the coordination complex's structure of the metal center was regular or inordinate square-pyramidal configuration, and that differences from the result at physiological pH (squre-pyramidal→square-planar), but the binding site still located at the N-terminal sequence of HSA, and coordinated with α-NH₂ of Asp¹, imidazolyl of His³ as well as two peptide nitrogens. This could be explained by the discrepancy of the coordinate surroundings.

Key words Mn(I)-HSA, isoionic point, LMCT band, optial electronegativity

前文^[1]研究了生理 pH 下 Mn(I)与 HSA (human serum albumin, 人血清白蛋白) 的相互作用, 发现金属中心可从低浓度时的五配位四方锥构型转变为高浓度时的四配位四方平面构型。鉴于类似体系在生理 pH 时和 HSA 的等离子点 (pH=5.3) 时金属中心的配位结构有较大差别^[2~4], 本文继续在紫外区观察 LMCT (ligand to metal charge transfer) 谱带, 研究 1:1Mn(I)-HSA 在等离子点时金属中心的结构。结果表明: 在实验浓度范围内 (<3.0×10⁻⁴mol·dm⁻³), 金属中心始终具有五配位的四方锥构型。我们还用配位环境的差异对本文和前文的不同结果进行了讨论。

1 实验部分

HSA 为广东省中心血站出品, 含量约为 95% (其余主要是含湿量), 用前未经进一步纯化。MnCl₂、EDTA、NaCl、NaOH 和盐酸均为分析纯试剂。所有溶

液都用去离子水配制, 不含缓冲剂但均含 0.10 mol·dm⁻³ 的 NaCl 以维持相同的离子强度。MnCl₂ 溶液的浓度用 EDTA 标定, HSA 溶液用前新鲜配制, 浓度用光度法测定^[5]。配制试样溶液前, 所有溶液的 pH 用稀盐酸和 NaOH 调控为 5.3。用上述溶液在测定 UV 光谱前混合成不同浓度 1:1 摩尔比的 Mn(I)-HSA 试样溶液, 各以相同浓度的 HSA 作参比。

测量 pH 用 pHS-10A 型精密数字显示酸度计, 紫外光谱用 Hitachi UV-3400 型紫外-可见光谱仪测定, 室温下记谱。

2 结果讨论

2.1 UV 光谱描述

pH=5.30 时, 不同浓度的 Mn(I)-HSA 试样的紫外光谱均极相似, 各试样均显示 2 个峰。其中 1 个出现高能侧, 浓度较低时 (<1.5×10⁻⁴ mol·dm⁻³), 为一个双齿峰, 浓度进一步升高, 该峰进一步分裂。另一个峰出现在低能侧, 显示为单峰 (图 1)。浓度升高过程中, 高能侧的多齿峰及低能侧的单峰均规则地红移 (表 1), 前者从 235 nm 红移到 270 nm 左右, 后

1994-03-07 收稿。

* 国家自然科学基金资助项目。

** 通讯联系人。

*** 南开大学化学系。

者从 278 nm 红移到 290 nm 左右。

2.2 谱带的归属及金属中心结构研究

等离子点时, Mn(II)-BSA 的光谱特征是均在低能侧显示一个单峰,高能侧显示一个 2 齿峰(浓度 $< 1.5 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$)或多齿峰(浓度大于 $1.5 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$),见图 1 和表 1。根据谱带的强度、位置并参考类似体系,显示的均为 LMCT 谱带。

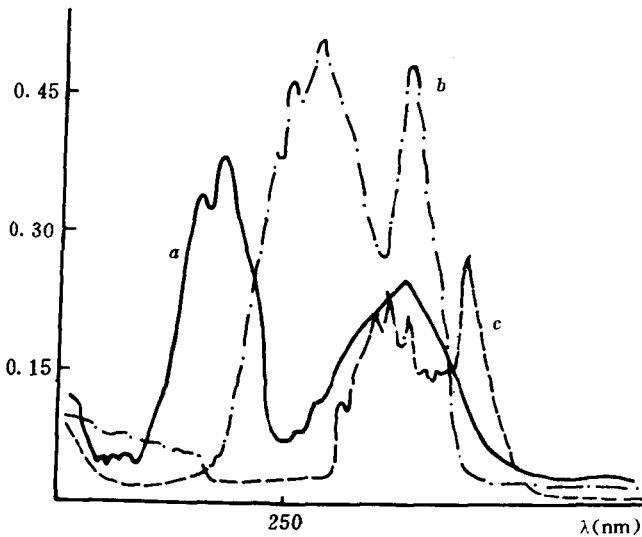


图 1 pH=5.30 时 1:1 Mn(II)-HSA 体系的 UV 光谱
Fig. 1 UV spectra of 1:1 Mn(II)-HSA system at pH=5.30
a. $2.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$; b. $1.5 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$; c. $3.0 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$

表 1 pH=5.30 时 Mn(II)-HSA 1:1 体系的 UV 光谱数据
Table 1 Data on UV spectra of 1:1 Mn(II)-HSA system at pH=5.30

试样编号 No.	浓度 Concentration $\times 10^4$ $\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$	λ_{max} (nm)*
1	0.2	237.4 (0.35), 278.7 (0.24)
2	0.5	239.8 (0.25), 281.1 (0.18)
3	1.0	246.4 (0.46), 283.2 (0.87)
4	1.5	256.7 (0.51), 286.5 (0.49)
5	2.0	262.6 (0.28), 288.1 (0.42)
6	2.5	269.1 (0.30), 289.1 (0.31)
7	3.0	272.6 (0.26), 290.2 (0.28)

* 括号内为吸光度数值 The data in brackets are at absorbances.

由常见的分子轨道能级图推断, d^5 组态的 Mn(II) 取四方平面构型 (D_{4h}) 时, 均只有一个允许的 LMCT 跃迁 $e_g(N) \rightarrow b_{1g}(3d)$ 。取四方锥构型 (C_{4v}) 时, 允许的 LMCT 跃迁有 3 个⁽¹⁾:



但若取不规则四方锥构型时因不满足 C_{4v} 对称性, 允许的跃迁将多于 3 个, 使相关谱带显示分裂。因此只要假定在实验浓度范围内, Mn(II)-HSA 中金属中心为四方锥或畸变的四方锥构型的即可满意解释上述光谱特征。

我们曾论证^(1,2), 跃迁 (1) 的电子主要来自羧基氧, 跃迁 (2) 的电子来自 $\alpha\text{-NH}_2$, 跃迁 (3) 的电子主要来自去质子肽氧, (1) 和 (2) 对应于图 1 中的多齿峰, (3) 则对应于图 (1) 中 285 nm 附近的单峰。Mn(II) 中心极可能位于 HSA 的 N 端三肽段上, 配位环境涉及 Asp¹ 的羧基氧、 $\alpha\text{-NH}_2$ 、His³ 的咪唑基 N 及它们之间的两个去质子肽氮, 具有规则的 (浓度小于 $1.5 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ 时) 或不规则的 (浓度大于 $1.5 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ 时) 四方锥构型。

上述归属和谱带的位置完全符合电荷转移跃迁能 E (LMCT) 的计算公式⁽⁶⁾。

对 Mn(II) (LS):

$$E(\text{cm}^{-1}) = 30\,000[X(L) - X(M)] + \frac{2}{3}D$$

这里 $X(L)$ 和 $X(M)$ 分别是配体和 Mn(II) 的光学电负性 (Optical electronegativity)。D 是自旋成对能参数, 对 Mn(II), D 可近似取 $7B = 5\,460$ (B 是 Racah 参数)⁽⁷⁾。根据前面对各谱带的归属, 我们直接引用 Mn(II) 的 $X(M) = 2.00$ ⁽¹⁾, 算得各个光学电负性值。由表 2 可见, 等离子点时有关轨道的光学电负性

表 2 光学电负性值
Table 2 Data on optical electronegativity.

	Mn(II)	R-NH ₂	R-COO ⁻	去质子肽氮 Deprotonated peptide N
$E(\text{cm}^{-1})$			38 956	34 904
Mn(II)-HSA (pH=5.30)	2.00*	3.18	3.18	3.04
Mn(II)-HSA (pH=7.43)	1.99*	3.2**	3.19*	3.01*
Mn(II)-BSA	2.00*	3.2**	3.19*	3.01*

* 取自文献 [1] From reference [1]; ** 取自文献 [1] From reference [3]。

均与生理 pH 下的接近或相同, 有力地支持了我们对谱带的归属和对 Mn(II)-HSA 金属中心结构的推测。需要说明的一点是, 表 2 中 E 的数据是由取规则四方锥构型时最大浓度的谱带位置所得, 对类似体系^(1,5) 计算有关轨道的光学电负性亦采用这一办法。

2.3 配位环境差异对金属中心结构的影响

在等离子点时, Mn(II)-HSA 的金属中心在实验

(下转第 59 页 Continue on page 59)

点: ①各子系统的目标函数可以根据具体问题的特点加以选择; ②松弛变量的引入降低了各子系统对初始设计的要求, 无论初始设计是否可行都能获得满意的效果, 从而提高了方法的可靠性; ③利用最优敏度信息, 将各子系统目标函数最小值近似表示为系统层变量的线性函数, 并以迭加形式出现在系统层目标函数中, 既不增加系统层优化工作量, 又避免了在系统层优化设计过程中对子系统进行的重优化; ④只用到目标函数的一阶敏度, 因而无需像 Sobieski 的线性分解法那样进行费时的二阶偏导数计算; ⑤优化实例结果表明, 所提出的方法具有良好的收敛性质, 迭代次数少于或等于单层优化的迭代次数。

参考文献

- 1 Kirsch U. Multilevel approach to optimum structural design. *J Struc Div ASCE*, 1975, 101; 957~974.
- 2 Sobieszczanski-Sobieski J. A linear decomposition method for large optimization problems-blueprint for development. NASA TM-83248, 1982.
- 3 Sobieszczanski-Sobieski J, James B B, Dovi A R. Structural opti-

mization by multilevel decomposition. *AIAA J*, 1985, 23; 1775~1782.

- 4 Sobieszczanski-Sobieski J, Barthelemy J F, Riley K M. Sensitivity of optimum solutions to problem parameters. *AIAA J*, 1982, 20; 1291~1299.
- 5 Barthelemy J F M, Sobieszczanski-Sobieski J. Optimum sensitivity derivatives of objective function in nonlinear programming. *AIAA J*, 1983, 21; 913~915.
- 6 Golinski J. Optimal synthesis problems solved by means of nonlinear programming and random methods. *J Mech*, 1970, 5; 287~309.
- 7 Barthelemy J F M, Riley M F. Improved multilevel optimization approach for the design of complex engineering systems. *AIAA J*, 1988, 26; 353~360.
- 8 Azarm S, Li W C. A Two-level decomposition method for design optimization. *Eng Opt*, 1988, 13; 211~224.
- 9 Cheng G D, Wei R Y. A Multilevel optimization method for the design of complex engineering systems. *Proc APCOM*, Sydney, 1993; 911~915.
- 10 韦日钰. 工程系统层次/网状分解优化设计方法研究: [博士学位论文]. 大连: 大连理工大学, 1993.

(责任编辑: 蒋汉明)

(上接第 13 页 Continue from page 13)

浓度范围内只以规则或不规则的四方锥构型存在, 与生理 pH 下的结果^[1]明显不同。这是因配位环境差异所致。

配位环境差异对 Mn(II)-HSA 金属中心结构的影响表现在两个方面。一方面, 在等离子点时, 随着浓度升高, 金属中心的结构由规则的四方锥构型向不规则的四方锥构型转变, 这是因为较高浓度时, Mn(II)在 HSA 中的配位环境(分子内空间)比浓度较低时的拥挤导致金属中心的配位结构畸变而不能再以四方锥构型存在。另一方面, 与生理 pH 下的结果^[1]相比, 本文条件下, 在同样的较高浓度 ($>2.5 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$) 时, Mn(II)中心的结构并没取四方平面构型, 原因之一是 d^5 组态的 Mn(II)的配合物极少取四方平面构型, 但造成这一结构差异的主要原因是这两种不同 pH 条件下 Mn(II)在 HSA 中的配位环境(分子内空间)差异所致。文献报道^[5], 在生理 pH 下 HSA 以 N (native) 构象存在; 在等离子点时, HSA 发生向 F 构象(部分酸膨胀构象)的转变。可能正是这种转变, 使白蛋白的三级结构变得较松散, 而具有较

宽松的分子内空间(配位环境), 从而使得 Mn(II)配合物的立体化学习性得以基本保持而取畸变的四方锥构型。

参考文献

- 1 梁宏, 周永洽, 申泮文. Mn(II)-HSA 和 Mn(II)-BSA 金属中心的结构研究. *科学通报*, 1994, 39(11).
- 2 Shen Panwen, et al. Structural studies on metal-serum albumin I: An ultraviolet spectroscopic study of copper (II)-human serum albumin complexes. *Inorg Chim Acta*, 1990, 169; 161~169.
- 3 周永洽等. 金属-血清白蛋白的结构研究 I: Cu(II)-BSA 和 Ni(II)-BSA 的四方锥→四方平面结构. *化学学报*, 1991, 49; 59~64.
- 4 周永洽等. 金属-血清白蛋白的结构研究 IV: 等离子点附近 HSA 和 BSA 中 Cu(II)和 Ni(II)金属中心的结构. *无机化学学报*, 1992, 8(4); 382~386.
- 5 de Gruyter W. *Concise encyclopedia of biochemistry*, Berlin, 1983, P103~110.
- 6 Lever A B P. *Inorganic electronic spectroscopy*. Elsevier, Amsterdam. 2nd ed. 1984, P80.

(责任编辑: 蒋汉明)