

研究论文

β -环糊精-Cu(Ⅱ) 配合物催化氧化 邻苯二酚及其反应动力学

王 秉, 胡智文, 郑海玲, 杨海亮, 黄小芳, 张殿波, 万军民

(浙江理工大学先进纺织材料与制备技术教育部重点实验室, 浙江 杭州 310018)

摘要: 以 β -环糊精 (β -CD) 作为骨架, 经磺酰化反应、卤代反应和与 L-组氨酸的亲核取代反应, 得到了两种 β -环糊精-组氨酸衍生物配体, 再将配体与 Cu(Ⅱ) 配位, 合成了具有多酚氧化酶催化活性的 β -环糊精-Cu(Ⅱ) 配合物。采用元素分析、傅里叶变换红外光谱、核磁共振波谱和原子吸收光谱等方法对配体和配合物的结构进行了表征。以 O_2 为氧化剂, 用分光光度法测定了它们催化邻苯二酚氧化反应的性能, 并考察了反应温度、pH 值等因素对催化反应速率的影响。结果表明: β -环糊精-Cu(Ⅱ) 配合物具有良好的催化性能; C-2 位修饰得到的环糊精类金属衍生物因为活性基团与反应中心之间相对位置适宜, 表现出较大的加速效果; 反应动力学表明组胺基配位 Cu(Ⅱ)、 β -CD 疏水空腔和碱催化作用是反应加速的 3 个因素。

关键词: β -环糊精; 多酚氧化酶; 催化; 邻苯二酚; 反应动力学

中图分类号: TQ 032; O 643

文献标识码: A

文章编号: 0438-1157 (2009) 06-1459-07

Oxidation of catechol catalyzed by β -cyclodextrin-Cu(Ⅱ) complexes and its reaction kinetics

WANG Bing, HU Zhiwen, ZHENG Hailing, YANG Hailiang,

HUANG Xiaofang, ZHANG Dianbo, WAN Junmin

(Key Laboratory of Advanced Textile Materials and Manufacturing Technology, Ministry of Education, Zhejiang Sci-Tech University, Hangzhou 310018, Zhejiang, China)

Abstract: Two kinds of β -cyclodextrin (β -CD) derivatives mono-6-(N-histamino)-6-deoxy- β -cyclodextrin (6-His- β -CD) and mono-2-(N-histamino)-2-deoxy- β -cyclodextrin (2-His- β -CD) were prepared by reacting β -CD with *p*-toluene sulfonyl chloride, displacement the monotosylate with iodide, and finally the reaction of cyclodextrin iodide with nucleophile L-histidine. From these derivatives, the β -CD-Cu(Ⅱ) complexes (Cu(Ⅱ)/6-His- β -CD, Cu(Ⅱ)/2-His- β -CD) with polyphenol oxidase (PPO) activity were synthesized. The derivatives and the complexes were characterized with elemental analysis, Fourier-transform infrared spectroscopy, nuclear magnetic resonance spectroscopy and atomic absorption spectrometry. The complexes were used as catalysts for the oxidation of catechol using O_2 as the oxidant, which was monitored by UV-Vis spectrophotometer. The effects of temperature and pH value on the reaction were also studied. The results indicated that the PPO mimics exhibited high catalytic activities. Cu(Ⅱ)/2-His- β -CD showed higher PPO activity than Cu(Ⅱ)/6-His- β -CD. The kinetic studies showed that all three factors, the hydrophobic environment provided by β -CD, the Cu(Ⅱ) bound to the histamine and the base catalysis contributed to the PPO activity.

Key words: β -cyclodextrin; polyphenol oxidase; catalyze; catechol; reaction kinetics

2008-11-03 收到初稿, 2009-03-20 收到修改稿。

联系人: 胡智文。第一作者: 王秉 (1983-), 男, 硕士研究生。

基金项目: 国家自然科学基金项目 (20206019); 浙江省自然科学基金项目 (M503216)。

Received date: 2008-11-03.

Corresponding author: Prof. HU Zhiwen. **E-mail:** zstu17526@hotmail.com

Foundation item: supported by the National Natural Science Foundation of China (20206019) and the Natural Science Foundation of Zhejiang Province (M503216).

引 言

β -环糊精 (β -cyclodextrins, β -CD) 是由 7 个 D-吡喃葡萄糖单元通过 α -1, 4-糖苷键首尾相连形成的环状化合物, 它具有一个刚性的疏水空腔, 可选择性地包合和定位底物, 也可以通过化学修饰的方法引入催化功能基团, 建立电荷和质子传递体系, 是一种优良的模拟酶主体化合物^[1-2]。 β -CD 及其衍生物作为模拟酶得到了许多应用^[3-6], 其研究的目的是继承酶催化的高效性、专一性和反应条件温和等优点^[7], 克服其对环境过于敏感、易失活、价格昂贵等缺点。 β -CD 催化反应时, 参与反应的底物分子先被 β -CD 空腔包结, 再与其发生反应, 与酶促反应的机理十分相似。

多酚氧化酶 (polyphenol oxidase, PPO) 是核基因编码的专一性质体铜金属酶, 广泛存在于自然界中, 可以在温和条件下高效催化邻苯二酚氧化生成邻苯二醌, 一直是人们研究的热点, 对多酚氧化酶的化学模拟更是一个具有挑战性的课题^[8]。在前期研究中, 作者通过修饰 β -CD 的第一面 (C-6) 合成多酚氧化酶的模型物, 并对其性能进行了初步研究^[9]。

天然 β -CD 催化活性较弱^[10], 催化基团的定向引入可提高其催化能力, 基于仿生化学的考虑, 本文将在多酚氧化酶中起重要作用的组胺基团定向引入到 β -CD 的第二面 (C-2) 上, 然后进一步与 Cu (II) 络合, 以期得到功能化的 β -环糊精-Cu (II) 配合物作为效果更好的酶模型, 考察了该类环糊精金属衍生物催化邻苯二酚氧化反应的性能, 并对催化反应动力学进行探讨。

1 实验部分

1.1 原料与试剂

β -环糊精 (β -CD), 生化试剂, 德国 Wacker 公司, 用前重结晶提纯 2 次, 在 90℃ 下真空干燥 12 h; 对甲苯磺酰氯 (p -TsCl), 化学纯, 国药集团化学试剂有限公司, 用前经乙醚提纯; L-组氨酸 (L-His), 生化试剂, 美国 Sigma-Aldrich 公司; 邻苯二酚, 分析纯, 上海三爱思试剂有限公司; N,N -二甲基甲酰胺 (DMF), 杭州汇普化工仪器有限公司; 高纯氧, 纯度 $\geq 99.995\%$, 杭州电化集团气体有限公司; 单-(6-组胺基-6-脱氧)- β -环糊精 (6-His- β -CD) 和 Cu (II) /6-His- β -CD 均为实

验室自制^[11]; 其他所用试剂和溶剂均为分析纯, 去离子水使用前经二次蒸馏。

1.2 仪器

傅里叶变换红外光谱分析仪 (FTIR), Nicolet 5700 型, 美国热电公司; 超导核磁共振波谱仪, AVANCE AV400MHz 型, 德国 Bruker 公司; 元素分析仪, Vario EL 型, 德国 Elementar 公司; 紫外光谱分析仪, U-3010 型, 日本日立公司; 紫外-可见分光光度计, SpectrumLab 752S 型, 上海棱光科技有限公司; 精密酸度计, Delta 320 型, 瑞士 Mettler-Toledo 公司; 原子吸收光谱仪, Solar M6 型, 美国热电公司; 电子分析天平, AUY120, 日本岛津公司; 集热式恒温加热磁力搅拌器, DF-101S 型, 杭州惠创仪器设备有限公司; 高速离心机, Hettich-Mikro120 型, 德国 Hettich 公司。

1.3 环糊精类金属衍生物的制备

1.3.1 单-(2-O-对甲苯磺酰基)- β -环糊精(2-OTs- β -CD)的合成 将 8 g (7.06 mmol) 预处理过的 β -CD 溶于 320 ml ($0.15 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 的 NaOH 中, 另外将 8.0 g (41.97 mmol) p -TsCl 溶于最少量乙腈, 在室温下滴加到上述 β -CD 溶液中。搅拌下不断滴加 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 NaOH 溶液以保持反应液 $\text{pH} \geq 12.5$, 3 h 内滴加完毕后继续搅拌 1 h, 向反应液中加入 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 HCl 中和过量的碱, 并终止反应。滤去少量未反应的 p -TsCl, 溶液用玻璃纸透析脱盐, 减压蒸除大部分水后加入 400 ml 甲醇, 滤去不溶物, 减压蒸干, 产物溶于尽可能少的热水中, 冷后于冰箱中放置 1 周, 滤除少许沉淀, 滤液减压蒸干, 丙酮洗涤, 抽滤, 40℃ 下真空干燥, 得到粉末状产物^[11], 收率为 47%。元素分析实测值: C 43.70%, H 6.15%。按化学式 ($\text{C}_{49} \text{H}_{76} \text{O}_{37} \text{S} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) 计算值: C 43.99%, H 5.98%。

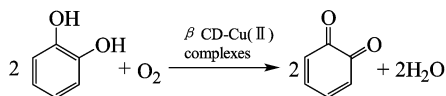
1.3.2 单-(2-碘 2-去氧)- β -环糊精(2-I- β -CD)的合成 将 1.0 g (0.77 mmol) 2-OTs- β -CD 溶于 40 ml DMF 中, 加入过量 NaI, 反应物摩尔比为 $n(\text{NaI}) : n(2\text{-OTs-}\beta\text{-CD}) = 10 : 1$, 90℃ 下搅拌反应 5 h, 停止反应, 在 40℃ 下减压蒸干溶剂, 残留物加入丙酮洗涤 3 次, 除去未反应的 NaI。将所得固体溶于最少量的水中, 加入丙酮得到沉淀, 40℃ 下真空干燥, 得到浅黄色粉末状产物^[12], 收率 85%。元素分析实测值: C 40.59%, H 5.72%。按化学式 ($\text{C}_{42} \text{H}_{69} \text{O}_{34} \text{I}$) 计算值: C 40.51%, H 5.55%。

1.3.3 单-(2-组胺基-2-脱氧)- β -环糊精(2-His- β -CD)的合成 将 1.0 g (0.8 mmol) 2-I- β -CD 溶于 40 ml DMF 中, 加入过量的 L-组氨酸, 反应物摩尔比为 $n(\text{L-His}) : n(2\text{-I-}\beta\text{-CD}) = 10 : 1$, 在 60°C 、 N_2 保护下反应 24 h。将反应后得到的悬浊液过滤, 除去沉淀, 滤液在 40°C 下减压蒸馏去除溶剂, 所得黄色蜡状物用丙酮洗涤。所得固体溶于水并重新用丙酮沉淀^[13]。经多次处理后, 即得到最终产物, 收率 40%。元素分析实测值: C 40.9%, H 6.51%, N 3.02%。按化学式 ($\text{C}_{47}\text{H}_{77}\text{O}_{34}\text{N}_3 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$) 计算值: C 41.1%, H 6.78%, N 3.1%。

1.3.4 β -环糊精-Cu(II) 配合物(Cu(II)/2-His- β -CD)的合成 将 0.137 g (0.1 mmol) 2-His- β -CD 加入 25 ml 去离子水中, 以 $4 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 中性红溶液作指示剂。在磁力搅拌条件下, 逐滴加入 25 ml $4 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 CuSO_4 溶液。滴加完毕, 用 $5.0 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ HCl 和 $5.0 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaOH 将溶液调至所需 pH, 即得到 $2 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 环糊精类金属衍生物溶液^[14]。用紫外吸收光谱和原子吸收光谱分析金属配合物, 发现金属离子与配体的比值为 1.0, 即 1 个配体分子与 1 个 Cu(II) 形成配合物。

1.4 环糊精类金属衍生物的活性评价

环糊精类金属衍生物的活性采用分光光度法进行测定。在 5 ml 具塞硬质玻璃管 (内径 10 mm) 中, 分别加入 4.0 ml $0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的磷酸盐缓冲液、0.5 ml $0.05 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的邻苯二酚溶液和 0.5 ml 模拟酶溶液, 毛细管鼓泡通入 O_2 , 控制气压为 0.1 MPa, 流量 $35 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$, 在超级恒温水浴中反应。从通入 O_2 的即刻开始计时, 每隔 1 min 取样, 离心 (转速 $10000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$) 3 min, 取上层清液, 用微孔过滤器 (水系, 孔径 $0.45 \mu\text{m}$) 过滤后, 将溶液转移到分光光度计的石英比色皿中, 在设定温度 35°C , 设定波长 410 nm 下测定反应体系的吸光度。空白实验以 H_2O 代替环糊精类金属衍生物, 计算催化效率时除去邻苯二酚在没有环糊精类金属衍生物存在条件下的氧化反应。反应方程式如下



1.5 反应条件对环糊精类金属衍生物活性的影响

1.5.1 pH 对环糊精类金属衍生物催化活性的影响 取 0.1 g 环糊精类金属衍生物, 于 $\text{pH} = 6.5 \sim 7.5$ 的 5 ml 缓冲液中催化底物反应 15 min, 取样测定反应速率。 pH 由 $0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 NaH_2PO_4 - Na_2HPO_4 缓冲液控制。

1.5.2 温度对环糊精类金属衍生物催化活性的影响 取 0.1 g 环糊精类金属衍生物, 分别在 20、25、30、35、40、 45°C 下催化底物反应 15 min, 取样测定反应速率。

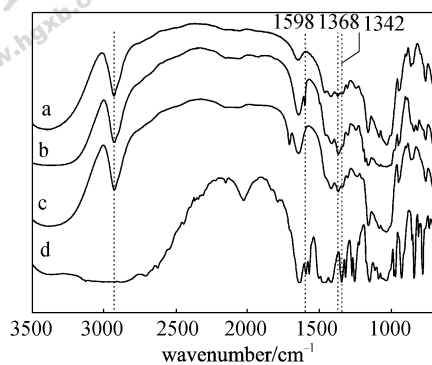
1.6 动力学测量

反应在邻苯二酚浓度大于环糊精类金属衍生物浓度 10 倍以上的条件下进行, 按准一级反应处理, 实验温度为 35°C , $\text{pH} = 7.0$, 固定环糊精类金属衍生物的浓度为 $2 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。用紫外-可见分光光度计于 410 nm 处跟踪氧化产物邻苯二醌的吸光度随时间的变化。根据 $v = \text{dc}/\text{dt} = (\text{d}A/\text{dt})/\epsilon$ 计算反应的初始速率 v , 其中, c 为产物浓度, A 为产物吸光度, t 为时间, ϵ 为摩尔吸光系数。在底物浓度为 $2 \times 10^{-3} \sim 2 \times 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围内, 测定多个浓度 ($\text{d}A/\text{dt}$) 值进行线性拟合得到 v , 所有的初始速率值均为 3 次实验结果的平均值。

2 结果与讨论

2.1 环糊精类金属衍生物的 FTIR 分析

图 1 是环糊精及其衍生物的 FTIR 谱图。与 β -CD 的标准谱图 (曲线 a) 相比, 2-OTs- β -CD (曲线 b) 在 1598 cm^{-1} 附近出现 1,4-取代苯环的 C—C 环伸缩振动峰, 在 1368 cm^{-1} 附近出现 $\text{S}(\text{=O})_2$ 不对称伸缩振动峰, 在 1178 cm^{-1} 附近出现 $\text{S}(\text{=O})_2$ 对称伸缩振动峰, 在 $840 \sim 769 \text{ cm}^{-1}$ 呈现 S—O—C 伸缩振动峰, 这说明 Ts 基团已经取代 β -CD 上的羟基, 连接到了 β -CD 分子的 C-2 原子上。在 2-I- β -CD 的红外光谱图 (曲线 c) 上, Ts 基团的特征吸收峰消失, 而在 $1350 \sim 1120 \text{ cm}^{-1}$ 范围内出现了卤代烃中强的亚甲基摇摆振动谱带。图 1 中曲线 d 为 2-His- β -CD 的红外光谱图, 其中, $3100 \sim 2200 \text{ cm}^{-1}$ 为组胺基团 N—H 的伸缩振动峰, 1630 cm^{-1} 为羧酸中的羰基的振动峰, 1590 cm^{-1} 为不对称羧酸根离子 ($\text{C}=\text{O})_2$ 伸缩振动峰, 1415 cm^{-1} 为对称羧酸根离子 ($\text{C}=\text{O})_2$ 伸缩振动峰, 1342 cm^{-1} 为 C—N 键伸缩振动峰^[15]。说明 β -CD 经过 2-OTs- β -CD、2-I- β -CD 中间体, 得到了目标产物 2-His- β -CD。

图 1 β -环糊精及其 C-2 位衍生物红外光谱图Fig. 1 FTIR spectra of β -CD and its derivativesa— β -CD; b—2-OTs- β -CD;c—2-I- β -CD; d—2-His- β -CD

2.2 环糊精类金属衍生物的 ^1H NMR 分析

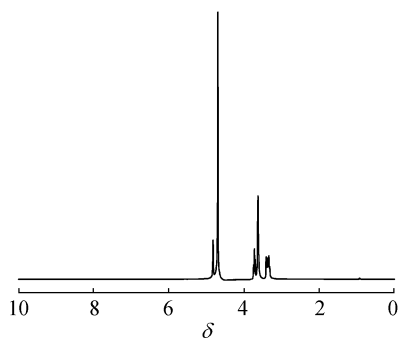
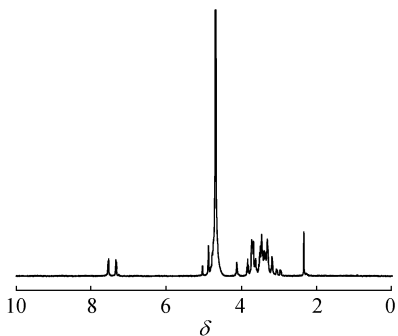
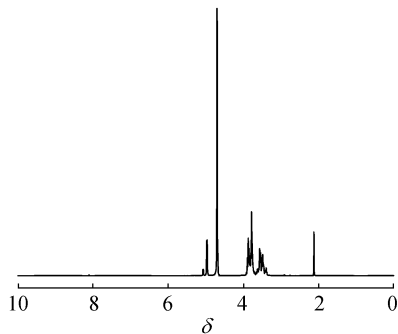
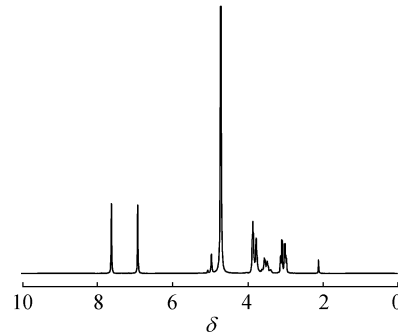
天然 β -CD 分子的特征吸收峰在 $\delta = 4.83 \sim 3.21$ 范围内, 在 $\delta > 6$ 范围内无吸收峰 [图 2 (a)]; 在 C-2 位引入对甲苯磺酰基修饰后 [图 2 (b)], 2 位质子信号产生裂分, 在高场 $\delta = 2.36$ 处出现新峰, 归属为对甲苯磺酰基团中甲基上的质子特征吸收峰; 同时, 在 δ 为 7.58、7.35 处出现苯环上质子的吸收峰, 与对甲苯磺酰氯相比, 产物中芳环上质子峰的化学位移向高场移动, 说明了磺酸酯键的生成^[16]。在 2-I- β -CD 的 ^1H NMR 谱图 [图 2 (c)] 中, CH_3 基团和苯环上质子的特征吸收峰减弱或消失, 说明对甲苯磺酰基团被取代, 而 2-His- β -CD [图 2 (d)] 在 δ 为 6.92、7.62 处出现新峰, 应归属为组胺基团咪唑环上的质子吸收峰。这充分证明组胺基团已经连接到 β -CD 的 C-2 上。

2.3 pH 对环糊精类金属衍生物催化反应速率的影响

pH 对环糊精类金属衍生物催化反应速率的影响如图 3 所示。在 $\text{pH} = 6.5 \sim 7.0$ 范围内, 它们的催化活性呈下降状态, 这是因为环糊精类金属衍生物的活性部位由 His 残基和 $\text{Cu}(\text{II})$ 组成, 催化基团中组氨酸咪唑基的 $\text{pK}_a = 6.0$, 因而在弱酸性条件下, 表现出较高的活性; 当 $\text{pH} > 7.0$ 时, 环糊精类金属衍生物催化活性随碱性的升高而增大, 这可能是因为邻苯二酚上的羟基由于受到芳香环的影响, 呈弱酸性, 随着碱性的增强, 酚羟基去质子化, 而后者更容易被 O_2 氧化。

2.4 温度对环糊精类金属衍生物催化反应速率的影响

在 $20 \sim 45^\circ\text{C}$ 之间, 温度对环糊精类金属衍生

(a) β -CD(b) 2-OTs- β -CD(c) 2-I- β -CD(d) 2-His- β -CD图 2 β -环糊精及其 C-2 位衍生物的 ^1H NMR 谱图Fig. 2 ^1H NMR spectra of β -CD and its derivatives

物的活性影响分为两个阶段。由图 4 可以看出, 在 $20 \sim 35^\circ\text{C}$ 范围内, 随着温度的升高, 环糊精类金属衍生物活性增加, 说明它们具有较好的稳定性, 升

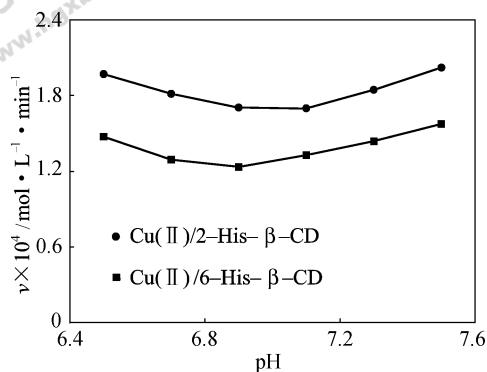


图3 pH对环糊精类金属衍生物催化邻苯二酚氧化反应速率的影响

Fig. 3 Effects of pH value on oxidation rate of catechol catalyzed by β -cyclodextrin-Cu(II) complexes (reaction condition: $0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ phosphate buffer, β -cyclodextrin-Cu(II) complexes $2 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, O_2 $35 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$, 35°C ; initial reaction rate was determined when conversion of substrate was lower than 10%)

高温有利于催化反应的进行,这是因为在催化氧化邻苯二酚过程中,温度升高有利于提高邻苯二酚分子的热运动,使邻苯二酚更容易被 β -CD空腔所包结;另外,由于 β -CD包结客体的 ΔH 一般为负值,温度升高有利于产物从 β -CD空腔中解离出来,这就提高了反应的周转数,使反应表现出高效率。当温度达到 35°C 后,反应周转数达到最大,此后,再继续升高温度,催化反应速率略有下降,这可能是因为高温条件下环糊精类金属衍生物活性中心的性质(特别是酸碱性)发生了变化,从而降低了它们的催化性能,因此实验选用 35°C 作为动力学测定温度。

2.5 环糊精类金属衍生物的催化动力学分析

与酶促反应类似, β -CD及其衍生物催化反应时,首先与底物可逆结合生成中间复合物,然后,中间复合物进一步反应生成产物^[1]。因此,在该催化反应体系中,存在下列反应动力学模型



其中,S为底物邻苯二酚,P为氧化产物,E为环糊精类金属衍生物, $\text{E} \cdot \text{S}$ 为反应生成的中间复合物,正逆反应的速率常数分别为 k_1 和 k_{-1} 。根据稳态假设可以得到

$$\frac{[\text{S}]}{v} = \frac{[\text{S}]}{V_{\max}} + \frac{K_m}{V_{\max}} \quad (1)$$

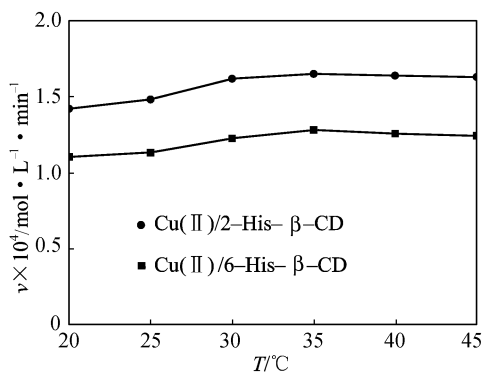


图4 温度对环糊精类金属衍生物催化邻苯二酚氧化反应速率的影响

Fig. 4 Effects of temperature on oxidation rate of catechol catalyzed by β -cyclodextrin-Cu(II) complexes (reaction condition: β -cyclodextrin-Cu(II) complexes $2 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, O_2 $35 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$, $\text{pH}=7.0$; initial reaction rate was determined when conversion of substrate was lower than 10%)

式中 $[\text{S}]$ 是底物邻苯二酚的浓度, v 为初始反应速率, $V_{\max}$ 为催化反应的最大速率, K_m 为Michaelis常数

$$K_m = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1} \quad (2)$$

根据式(1),固定环糊精类金属衍生物的浓度,改变底物邻苯二酚的浓度,根据Hanes-Woolf作图法,以底物浓度与初始反应速率的比值 $[\text{S}]/v$ 对底物浓度 $[\text{S}]$ 作图,可以得到一条直线,由直线的截距和斜率可以得到米氏常数 K_m 和最大反应速率 $V_{\max}$ 。

图5为 $\text{pH}=7.0$ 时催化邻苯二酚氧化的 $[\text{S}]/v$ 与 $[\text{S}]$ 的关系曲线,由图可见 $[\text{S}]/v$ 与 $[\text{S}]$ 呈现良好的线性关系($r>0.995$),这表明所提出的动力学模型是合理的。根据直线的斜率和截距可以计算出 $V_{\max}$ 和 K_m 值,进而得到各动力学参数(表1)。

从表1可以看出,作为度量结合能力的值,各个催化体系的 K_m 值相差不大,表明它们与底物间的亲和性相近^[17],也说明 β -CD空腔和底物之间具有相互匹配的立体化学特征,即较强的定向结合能力,从而可以通过底物的定向化、键的扭曲和变形来降低反应的活化能,这对形成良好的反应特异性和催化效力是相当重要的。

表1列出了不同体系催化邻苯二酚氧化反应的催化常数 k_{cat} 。在 35°C 、 $\text{pH}=7.0$ 、无催化剂存在

表 1 不同环糊精类金属衍生物催化邻苯二酚氧化反应的动力学参数
Table 1 Kinetic parameters of catechol oxidation catalyzed by different complexes

Complexes	Substrate	$K_m/\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	$V_{\max} \times 10^4/\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$	$k_{\text{cat}}/\text{min}^{-1}$	$(k_{\text{cat}}/K_m)/\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$
Cu^{2+}	catechol	0.0061	0.4937	0.2469	40.48
$\beta\text{-CD}$	catechol	0.0039	0.1096	0.0548	14.05
$\text{Cu}^{2+}/\text{His}$	catechol	0.0059	0.8931	0.4466	70.69
$\text{Cu}^{2+}/\beta\text{-CD}$	catechol	0.0045	0.6072	0.3036	67.47
6-His- $\beta\text{-CD}$	catechol	0.0051	0.1275	0.06375	12.50
2-His- $\beta\text{-CD}$	catechol	0.0049	0.1306	0.0653	13.33
$\text{Cu}^{2+}/6\text{-His-}\beta\text{-CD}$	catechol	0.0043	1.2810	0.6405	148.95
$\text{Cu}^{2+}/2\text{-His-}\beta\text{-CD}$	catechol	0.0040	1.6503	0.8252	206.29

Note: k_{cat} is catalytic constant, $k_{\text{cat}}=V_{\max}/[\text{E}]$; k_{cat}/K_m is apparent second-order rate constant; $k_{\text{cat}}/K_m=k_1k_2/(k_{-1}+k_2)$. Reaction conditions are the same as in Fig. 5.

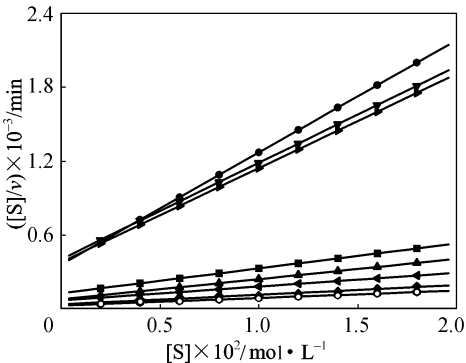


图 5 不同环糊精类金属衍生物催化邻苯二酚氧化反应的 $[S]/v$ 与 $[S]$ 的关系曲线

Fig. 5 Relationship between $[S]/v$ and $[S]$ for catechol oxidation catalyzed by different complexes (reaction condition: $0.2\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ phosphate buffer, $\text{pH}=7.0$, PPO mimic $2 \times 10^{-4}\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, O_2 $35\text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$, 35°C ; initial reaction rate was determined when conversion of substrate was lower than 10%)
● $\beta\text{-CD}$; ▼ 6-His- $\beta\text{-CD}$; ► 2-His- $\beta\text{-CD}$; ■ Cu^{2+} ; ▲ $\text{Cu}^{2+}/\beta\text{-CD}$; ◀ $\text{Cu}^{2+}/\beta\text{-CD}$; ◆ $\text{Cu}^{2+}/6\text{-His-}\beta\text{-CD}$; ○ $\text{Cu}^{2+}/2\text{-His-}\beta\text{-CD}$

的条件下, 邻苯二酚自发氧化的速率很慢, 其反应速率常数仅为 $2.1 \times 10^{-3}\text{ min}^{-1}$ 。当加入催化剂后, 各个体系的反应速率均有了较大提高。比较各个催化体系催化邻苯二酚氧化反应的 k_{cat} 可以发现, 组胺基团本身几乎没有活性, 每一个 $\text{Cu}(\text{II})$ 配合物的活性大于相应未配位的 $\beta\text{-CD}$ 或其衍生物的活性, 含有 $\beta\text{-CD}$ 的催化体系活性大于相应不含 $\beta\text{-CD}$ 的体系, $\beta\text{-CD}$ 的 2 位衍生物比 6 位衍生物具有更高的催化活性, 这可从配合物的结构和催化反应机理方面得到解释。

在 $\beta\text{-CD}$ 的立体结构中, 6 位羟基位于截锥状结构的主面 (较窄端), 2 位羟基位于次面 (较阔端), 不同位置修饰得到的衍生物之间活性的差异

源于两者活性基团与反应中心之间方向的不同^[18]。在催化反应时, 底物从较阔端进入空腔, 只有当底物位于空腔内, 而且具有正确的方向, 才有可能使催化反应具有饱和和动力学性质, 表现出高效率。2 位衍生物与底物邻苯二酚相对位置适宜, 从而表现出较大的加速效果。

此外, 由于引入的组胺基团侧链咪唑残基具有特异的质子授-受性能、共轭酸碱性能、亲核性能以及选择配位性能^[19], 在提供化学的立体特异反应场、选择性结合底物的同时, 还可以起到碱催化的作用。因此, 对于环糊精类金属衍生物而言, 组胺基配位 $\text{Cu}(\text{II})$ 、 $\beta\text{-CD}$ 疏水空腔和相当于酶反应中咪唑基的碱催化作用是反应加速的 3 个因素。

3 结 论

(1) 元素分析、傅里叶变换红外光谱和核磁共振波谱都表明组胺基团连接到 $\beta\text{-CD}$ 的 C-2 上, 紫外吸收光谱和原子吸收光谱表明配体与 $\text{Cu}(\text{II})$ 形成 1 : 1 的配合物。

(2) 该环糊精类金属衍生物和底物之间具有相互匹配的立体化学特征, 具有较强的催化邻苯二酚氧化反应的能力, 是一种优良的多酚氧化酶模型, 催化反应活性受到 pH 值、温度等反应条件的影响。

(3) 组胺基配位 $\text{Cu}(\text{II})$ 、 $\beta\text{-CD}$ 疏水空腔和相当于酶反应中咪唑基的碱催化作用是反应加速的 3 个因素。

References

[1] Breslow R, Dong S T. Biomimetic reactions catalyzed by cyclodextrins and their derivatives. *Chem. Rev.*, 1998, **98** (5): 1997-2012

- [2] Murakami Y, Shigekawa H, Atwood J L, Lehn J M. *Comprehensive Supramolecular Chemistry*. Oxford: Pergamon, 1996: 401
- [3] Fu H, Zhou Y H, Chen W L, Deqing Z G, Tong M L, Ji L N, Mao Z W. Complexation, structure, and superoxide dismutase activity of the imidazolate-bridged dinuclear copper moiety with-cyclodextrin and its guanidinium-containing derivative. *J. Am. Chem. Soc.*, 2006, **128** (15): 4924-4925
- [4] Ortega-Caballero F, Rousseau C, Christensen B, Petersen T E, Bols M. Remarkable supramolecular catalysis of glycoside hydrolysis by a cyclodextrin cyanohydrin. *J. Am. Chem. Soc.*, 2005, **127** (10): 3238-3239
- [5] Shi Dongpo (石东坡), Ji Hongbing (纪红兵), Hu Xiaofang (胡晓芳), Pei Lixia (裴丽霞), Li Zhong (李忠). β -Cyclodextrin promoted hydrolysis deprotection of cyclohexanone oxime to cyclohexanone. *Journal of Chemical Industry and Engineering (China)*(化工学报), 2008, **59** (9): 2241-2246
- [6] Milovic N M, Badjic J D, Kostic N M. Conjugate of palladium (II) complex and β -cyclodextrin acts as a biomimetic peptidase. *J. Am. Chem. Soc.*, 2004, **126** (3): 696-697
- [7] Wang Jingyan (王镜岩), Zhu Shenggen (朱圣庚), Xu Changfa (徐长法). *Biochemistry (生物化学)*. 3rd ed. Beijing: Higher Education Press, 2002: 320
- [8] Mandal S, Macikenas D, Protasiewicz J D, Sayre L M. Novel *tert*-butyl migration in copper-mediated phenol ortho-oxygenation implicates a mechanism involving conversion of a 6-hydroperoxy-2, 4-cyclohexadienone directly to an *o*-quinone. *J. Org. Chem.*, 2000, **65** (16): 4804-4809
- [9] Wang Bing (王秉), Hu Zhiwen (胡智文), Zheng Hailing (郑海玲), Lu Xiaochun (卢晓春), Wen Huitao (温会涛), Wan Junmin (万军民), Chen Wenxing (陈文兴). Synthesis and activity of a polyphenol oxidase mimic. *Journal of Zhejiang Sci-Tech University (浙江理工大学学报)*, 2008, **25** (5): 539-542
- [10] Khan A R, Forgo P, Stine K J, D'Souza V T. Methods for selective modifications of cyclodextrins. *Chem. Rev.*, 1998, **98** (5): 1977-1996
- [11] Murakami T, Harata K, Morimoto S. Regioselective sulfonation of a secondary hydroxyl group of cyclodextrins. *Tetrahedron Lett.*, 1987, **28** (3): 321-324
- [12] Breslow R, Schmuck C. Goodness of fit in complexes between substrates and ribonuclease mimics: effects on binding, catalytic rate constants, and regiochemistry. *J. Am. Chem. Soc.*, 1996, **118** (28): 6601-6605
- [13] Corradini R, Dossena A, Impellizzeri G, Maccarrone G, Marchelli R, Rizzarelli E, Sartor G, Vecchio G. Chiral recognition and separation of amino acids by means of a copper (II) complex of histamine monofunctionalized beta-cyclodextrin. *J. Am. Chem. Soc.*, 1994, **116** (22): 10267-10274
- [14] Tabushi I, Kuroda Y. Bis(histamino) cyclodextrin-zinc-imidazole complex as an artificial carbonic anhydrase. *J. Am. Chem. Soc.*, 1984, **106** (16): 4580-4584
- [15] Silverstein R M. *Spectrometric Identification of Organic Compounds (有机化合物的波谱分析)*. Analytical Services, Wuxi Pharma Tech Co., Ltd. (药明康德新药开发有限公司分析部), trans. Shanghai: East China University of Science and Technology Press, 2007: 71
- [16] Schneider H J, Hacket F, Rüdiger V, Ikeda H. NMR studies of cyclodextrins and cyclodextrin complexes. *Chem. Rev.*, 1998, **98** (5): 1755-1786
- [17] Tong Linhui (童林荟). *Cyclodextrin Chemistry—Foundation and Application (环糊精化学——基础与应用)*. Beijing: Science Press, 2001: 106
- [18] Yuan D Q, Ohta K, Fujita K. The first complete set of authentic functional γ -cyclodextrins with one imidazolyl group specifically attached to C-2 or C-3. *Chem. Commun.*, 1996 (7): 821-822
- [19] Deschamps P, Kulkarnia P P, Gautam-Basak M, Sarkara B. The saga of copper (II)-L-histidine. *Coord. Chem. Rev.*, 2005, **249** (9/10): 895-909