

## ИССЛЕДОВАНИЕ МЕТОДОМ ЭПР КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЯ МЕДИ(II) С АМИНОКИСЛОТАМИ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ pH

© С. Н. Болотин, В. Т. Панюшкин

УДК 538.113

Методом ЭПР спектроскопии изучено комплексообразование меди(II) с  $\beta$ -аланином, DL-гистидином, DL-лизином, DL-аргинином, DL-серином, DL-орнитином при различных соотношениях металл—лиганд и при разных pH. С использованием метода спиновой матрицы плотности определены средние времена жизни  $\tau_{10}$  и  $\tau_{21}$  комплексов, кажущиеся константы устойчивости  $K_1$ ,  $K_2$  комплексов меди с аминокислотами и их зависимость от pH. Значения истинных констант комплексообразования при ионной силе 2 моль/л получены обработкой зависимости  $\lg K_{\text{каж}}$  от pH методом наименьших квадратов.

Ранее [1,2] была предложена теория описания формы линии спектра ЭПР системы с многопозиционным химическим обменом на основе квантово-механического расчета спиновой матрицы плотности. Настоящая работа посвящена применению данного метода к исследованию комплексообразования иона меди(II) с аминокислотами при различных pH.

На рис. 1–4 приведены спектры ЭПР систем медь(II)—аминокислота с различными соотношениями концентраций аминокислоты ( $c_L$ ) и ионов меди ( $c_M$ ) при различных pH. Из анализа спектров видно, что уже при pH 2 происходит образование комплексов ML, о чем свидетельствует наличие четырех линий сверхтонкой структуры от ядер  $^{63,65}\text{Cu}$  с  $I$  3/2. При pH  $\geq 3$  и с увеличением концентрации лиганда для всех  $\alpha$ -аминокислот в спектре появляется еще один сигнал ( $g \sim 2.11$ – $2.12$ ), который относится к комплексу состава 1:2. Спектры обоих комплексов благодаря близости  $g$ -факторов и довольно большим константам сверхтонкого взаимодействия перекрываются, и положение линий в спектре комплекса ML с увеличением  $c_L$  изменяется из-за наложения сигнала комплекса ML<sub>2</sub>. Дальнейшее увеличение pH приводит к увеличению интенсивности сигнала комплекса ML<sub>2</sub> и явного проявления других компонент СТС (рис. 4).

В системе с гистидином уже при pH 3 в высокопольной компоненте сверхтонкой структуры спектра комплекса ML<sub>2</sub> проявляется дополнительная сверхтонкая структура от ядер  $^{14}\text{N}$  со спином  $I$  1. В случае комплексообразования остальных исследуемых  $\alpha$ -аминокислот дополнительная сверхтонкая структура проявляется при pH  $\sim 4$ . Образование связи с атомом азота при низких значениях pH в комплексе медь—гистидин объясняется образованием хелата с

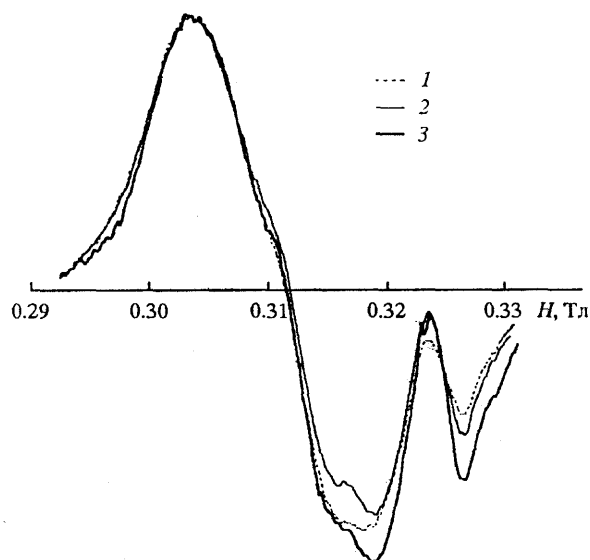


Рис. 1. Спектры ЭПР системы медь(II)—лизин при pH 2.  $c_L/c_M = 1$  (1), 2 (2), 4 (3).

участием имидазольной группы, имеющей значение  $pK$  6.08 для реакции депротонирования, что значительно ниже, чем  $pK_a$  для группы  $\alpha$ -NH<sub>2</sub> ( $\sim 9$ ) или донорных групп ( $pK_a$  10–12) других аминокислот.

Спектры ЭПР систем с  $\beta$ -аланином при низких pH (2–3) не подтверждают комплексообразования, и лишь при pH 4 (рис. 5) наблюдается образование соединения ML с  $g$  2.13. Различия в комплексообразовании  $\alpha$ - и  $\beta$ -аминокислот объясняются увеличением размеров хелатного кольца от пяти- (в  $\alpha$ -аминокислотах) до шестичленного (в  $\beta$ -аланине) и в соответствии с правилом циклов Чугаева уменьшением устойчивости комплекса.

Для точного определения параметров спин-гамма-тонкиана, констант устойчивости комплек-

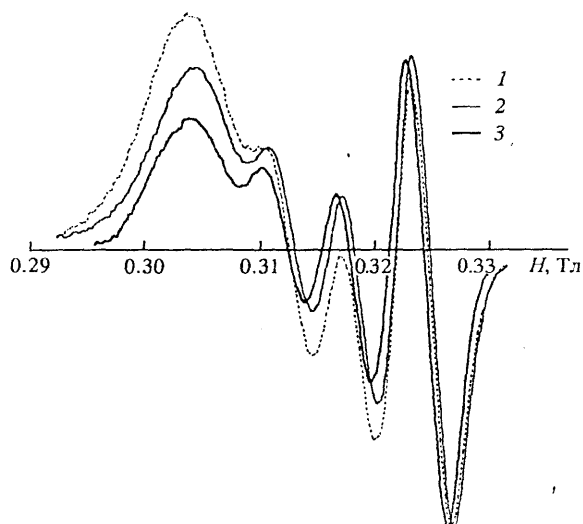


Рис. 2. Спектры ЭПР системы медь(II)-лизин при рН 3.  $c_L/c_M = 1$  (1), 2 (2), 4 (3).

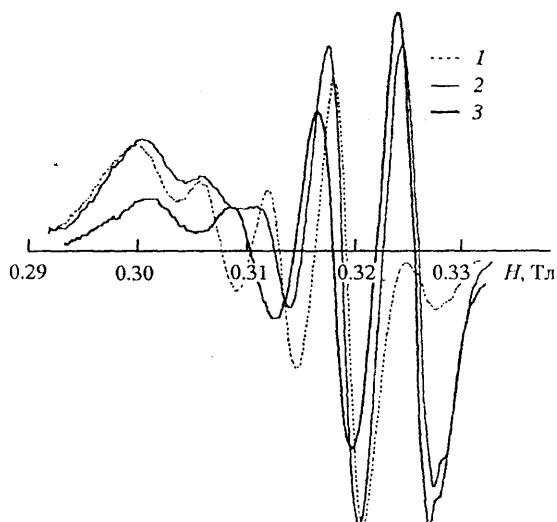


Рис. 4. Спектры ЭПР системы медь(II)-лизин при рН 5.  $c_L/c_M = 1$  (1), 2 (2), 4 (3).

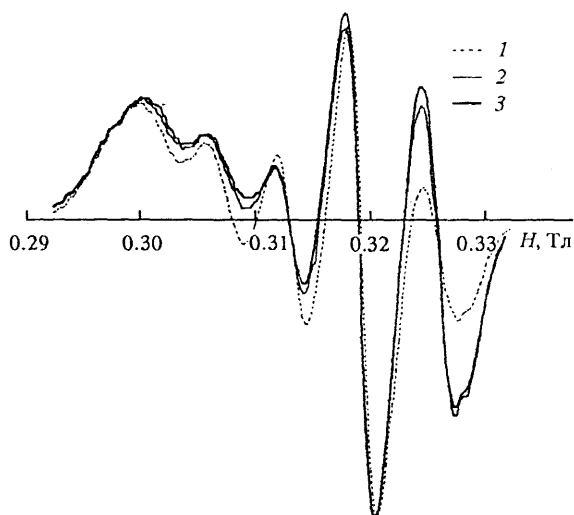
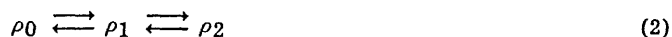
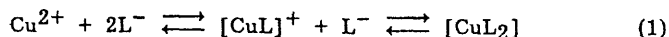


Рис. 3. Спектры ЭПР системы медь(II)-лизин при рН 4.  $c_L/c_M = 1$  (1), 2 (2), 4 (3).

сов ( $K_1, K_2$ ) и их средних времен жизни ( $\tau_{21}, \tau_{10}$ ) применялась процедура итеративной подгонки по критерию минимизации среднеквадратичного отклонения между экспериментальным спектром и теоретическим спектром, построенным с использованием метода спиновой матрицы плотности [1].



Представляя равновесие (1) в виде (2), где  $\rho_0, \rho_1, \rho_2$  — спиновые матрицы плотности, соответствующие состояниям  $\text{Cu}^{2+}, [\text{CuL}]^+, [\text{CuL}_2]$ , получим систему модифицированных уравнений (3) Лиувилля для случая медленного прохождения через резонанс.

$$\begin{aligned} \frac{i}{\hbar}[\hat{H}_0, \rho_0] - \frac{\rho_0}{T_2^0} + \frac{\rho_1 - \rho_0}{\tau_{01}} &= 0 \\ \frac{i}{\hbar}[\hat{H}_1, \rho_1] + \rho_1 R_1 + \frac{\rho_0 - \rho_1}{\tau_{10}} + \frac{\rho_2 - \rho_1}{\tau_{12}} &= 0 \quad (3) \\ \frac{i}{\hbar}[\hat{H}_2, \rho_2] + \rho_2 R_2 + \frac{\rho_1 - \rho_2}{\tau_{21}} &= 0 \end{aligned}$$

Здесь  $\hat{H}_0, \hat{H}_1, \hat{H}_2$  — спин-гамильтонианы состояний  $M, ML$  и  $ML_2, R_1$  и  $R_2$  — релаксационные матрицы состояний  $ML$  и  $ML_2$ , элементы которых зависят от значения ядерного спина и определяются по уравнению (4) Кивелсона [3]. Форма линии спектра ЭПР будет определяться выражением (5).

$$R^{ii} = \alpha + \beta m_i + \gamma m_i^2 + \dots \quad (4)$$

$$Y(H) = I_m [p_0 S_p(\rho_0 S^+) + p_1 S_p(\rho_1 S^+) + p_2 S_p(\rho_2 S^+)] \quad (5)$$

Здесь  $p_0, p_1, p_2$  — мольные доли веществ  $M, ML$  и  $ML_2$  соответственно.

В ходе итеративной подгонки сравнивали экспериментальные спектры и спектры, построенные по выражению (5). При этом одновременно обрабатывали четыре спектра с различными соотношениями  $c_L/c_M$ . Параметры, полученные в ходе этой процедуры, приведены в табл. 1, 2.

Приведенные в табл. 1 значения констант устойчивости не являются истинными в том смысле, что реакция  $M + L \rightleftharpoons ML$ , для которой рассчитывается константа, не отражает процессы, происходящие в равновесной системе, поскольку аминокислота существует в водном растворе в трех формах  $H_2L^+, HL, L^-$ , а в комплексообразовании участвует форма  $L^-$ .

Таблица 1

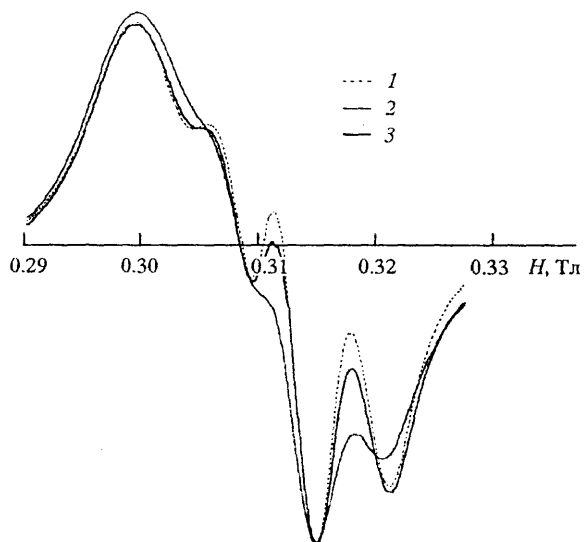
Значения кажущихся констант устойчивости комплексов меди(II) с аминокислотами

Аминокислота	pH							
	2	3	4	5	6	4	5	6
			lgK <sub>1</sub>				lgK <sub>2</sub>	
DL-Серин	0.6	1.7	2.6	3.6	4.7	-1.2	-0.1	1.0
DL-Лизин	0.1	1.0	1.8	2.8	3.8	-1.6	-0.7	0.2
DL-Аргинин	1.1	2.2	3.1	4.1	5.2	0.1	0.8	1.8
DL-Гистидин	3.0	4.1	5.0	6.0	7.0	2.0	2.9	3.9
DL-Орнитин	1.2	2.1	3.2	4.0	5.3	-0.8	0.1	1.2
β-Аланин		-0.6	0.3	1.4	2.4			

Таблица 2

Значения средних времен жизни τ<sub>10</sub> и τ<sub>21</sub> и констант устойчивости для комплексов меди с аминокислотами

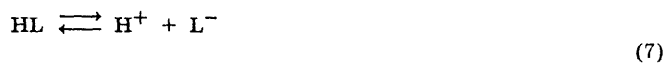
Лиганд	lgK <sub>1</sub>	lgK <sub>2</sub>	τ <sub>10</sub> , с	τ <sub>21</sub> , с
DL-Серин	7.8±0.2	4.6±0.2	(3.0±0.1)·10 <sup>-7</sup>	(3.9±0.2)·10 <sup>-7</sup>
DL-Лизин	7.0±0.2	4.0±0.2	(3.5±0.1)·10 <sup>-6</sup>	(4.5±0.2)·10 <sup>-6</sup>
DL-Аргинин	8.2±0.2	5.6±0.2	(2.6±0.1)·10 <sup>-6</sup>	(3.2±0.1)·10 <sup>-6</sup>
DL-Гистидин	10.2±0.2	7.7±0.2	(5.0±0.1)·10 <sup>-6</sup>	(5.6±0.2)·10 <sup>-6</sup>
DL-Орнитин	8.1±0.2	5.0±0.2	(1.9±0.1)·10 <sup>-6</sup>	(2.0±0.1)·10 <sup>-6</sup>
β-Аланин	4.2±0.4	-	(6.4±0.5)·10 <sup>-7</sup>	(8.0±0.5)·10 <sup>-7</sup>

Рис. 5. Спектры ЭПР системы медь-β-аланин при pH 4. c<sub>L</sub>/c<sub>M</sub> = 2(1), 4(2), 8(3).

Для расчета константы равновесия (6) необходимо учесть равновесие (7) между формами аминокислоты, в первую очередь между депротонированной и нейтральной формами с соответствующей константой равновесия.



$$K = \frac{[\text{CuL}^+]}{[\text{Cu}^{2+}][\text{L}^-]}$$



$$K_{a2} = \frac{[\text{HL}]}{[\text{H}^+][\text{L}^-]}$$

Подставляя значение равновесной концентрации L<sup>-</sup> из уравнения (7) в уравнения (6), получим выражение (8), связывающее константу равновесия реакции комплексообразования (6) с кажущейся константой устойчивости K<sub>k</sub>, определяемой в эксперименте.

$$\lg K = pK_{a2} - \text{pH} + \lg K_k \quad (8)$$

Значение истинной константы равновесия процесса комплексообразования при данной ионной силе раствора определяется обработкой зависимости (9) по методу наименьших квадратов.

$$\lg K_k = \text{pH} + (\lg K - pK_{a2}) \quad (9)$$

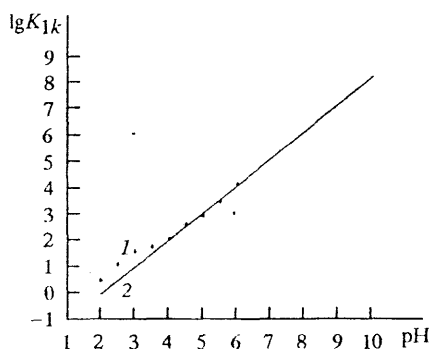


Рис. 6. Зависимость значений кажущейся константы устойчивости  $K_{1k}$  комплекса меди(II) с лизином от рН. 1 — экспериментальные значения, 2 — расчетная зависимость (9).

На рис. 6 показаны экспериментальные и рассчитанные из зависимости (9) значения  $\lg K_k$  при различных рН для реакции комплексообразования меди(II) с лизином по первой ступени. При этом обработке подвергались точки из интервала рН 3.5—6, поскольку при более низких значениях рН в комплексообразовании также участвует нейтральная форма аминокислоты.

Значения констант устойчивости для изучаемых комплексов приведены в табл. 2.

Сравнение значений времен жизни для комплексов состава  $ML$  и  $ML_2$  (табл. 2) показывает, что комплекс  $ML_2$  менее лабилен, что можно объяснить исходя из предположения о том, что реакция обмена лигандов протекает по ассоциативному механизму и наличие в экваториальной плоскости комплекса двух молекул аминокислоты затрудняет присоединение молекулы воды, предшествующее разрыву связи с одной из групп лиганда.

Параметры  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  из уравнения (4), определяющие уширение отдельных компонент сверхтонкой структуры, зависят от рН, что объясняется изменением структуры комплексов.

### Экспериментальная часть

В работе использовали  $CuCl_2 \cdot 2 H_2O$  марки ХЧ, глицин, DL-гистидин, DL-аргинин, DL-лизин, DL-серин, DL- $\alpha$ -аланин,  $\beta$ -аланин и DL-орнитин солянокислый марки ЧДА,  $KNO_3$  марки ЧДА. рН растворов изменяли добавлением 1 М. раствора КОН и 1 М. раствора  $H_2SO_4$ . Для измерения рН использовали иономер универсальной серии ЭВ-74, откалиброванный по двум буферным растворам. Буферные растворы приготовлены из фиксаналов: натрий тетраборнокислый (рН 9.18 при 25°C), калий фталевокислый (рН 4.01 при 25°C).

В работе были использованы растворы с соотношением  $c_M/c_L$  1—8 ( $c_M$  — общая концентрация ионов меди,  $c_L$  — общая концентрация аминокислоты) при рН от 2 до 6. Постоянную ионную силу поддерживали приготовлением всех растворов в 2 М.  $KNO_3$ . Для установления точной концентрации меди(II) применяли иодометрическое титрование. Концентрацию аминокислоты определяли по навеске; рН варьировали добавками растворов КОН и  $HNO_3$  в фоновом электролите.

Спектры ЭПР снимали на спектрометре Radiopan SE/X-2543. Значение магнитного поля определяли по встроенному ЯМР-магнитометру JTM-6. Точное значение частоты определялось по спектру дифенилпикрилгидразина.

### Список литературы

- [1] Панюшкин В.Т., Болотин С.Н., Ващук А.В. // ЖСХ. 1997. Т. 38. № 2. С. 385—388.
- [2] Болотин С.Н., Ващук А.В., Панюшкин В.Т. // ЖОХ. 1996. Т. 66. Вып. 8. С. 1360—1363.
- [3] Kivelson D., Collins G. Electron Spin Resonance Line Width in Liquids. Paramagnetic Resonance. New York: Acad. Press, 1962. Vol. 2. P. 496—507.