

利用扰动角关联方法研究络合物中 钼的氧化态及其配位体

汪勇先 倪新伯 徐金龙

(中国科学院上海原子核研究所)

扰动角关联方法是一种超精细相互作用的核技术,用于测定生物大分子在溶液中的旋转关联时间,也可用来研究溶液中生物大分子构型的变化、金属离子的介离常数及金属离子在生物体内的化学状态等等^[1,2]。本文利用⁹⁹Mo作为扰动角关联测量的探针核,以不同的价态分别与EDTA,酒石酸、半胱氨酸等络合。通过不同的扰动角关联衰减因子,分别研究了⁹⁹Mo周围不同的电场梯度,为金属离子在化合物中的价态和配位结构的微观研究开辟了一条新的途径。

一、原理

一个置于无场空间中的放射性核,通过中间核态级联发射二个 γ 射线(图1)。它的角关联函数可用下式表示:

$$W(\theta) = 1 + \sum_K A_K P_K(\cos\theta) \dots \dots (1)$$

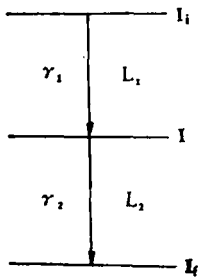


图1 γ - γ 级联跃迁图

$W(\theta)$ 表示级联发射二个 γ 射线其夹角为 θ 时的相对辐射几率, $P_K(\cos\theta)$ 是勒让德多项式, K_{max} 是 $2I_1, 2L_1$ 和 L_2 中最小的一个,而且是必须大于零的偶数。

在本实验中,我们采用了冰冻液体样品。

这是一种多晶体,在⁹⁹Mo周围存在着一个与时间无关的电场梯度,它与⁹⁹Mo衰变(图2)后的⁹⁹Tc的 $\frac{5}{2}+$ 态的电四极矩相互作用,引起了角关联函数的变化,并可用角关联衰减因子 G_K 来表示,于是在我们的实验中的扰动角关联函数可表示成^[3]:

$$W(\theta) = 1 + \sum_K A_K G_K P_K(\cos\theta) \dots \dots (2)$$

因为

$A_2 = 0.125 \pm 0.005, A_4 = -0.010 \pm 0.008$ ^[4], 即 $A_2 \gg A_4$, 于是式(2)可化为:

$$W(\theta) = 1 + A_2 G_2 P_2(\cos\theta) \dots \dots (3)$$

G_2 是周期性函数,对于⁹⁹Tc中间核态的自旋 $I = \frac{5}{2}+$,所以^[3]

$$G_2(t) = [7 + 13 \cos(\omega_e t) + 10 \cos(2\omega_e t) + 5 \cos(3\omega_e t)]/35$$

实验测得的是有限分辨时间 τ_0 内的平均值:

$$\begin{aligned} \bar{G}_2 &= \int_0^{\tau_0} e^{-\lambda t} G_2(t) dt / \int_0^{\tau_0} e^{-\lambda t} dt \\ &= [7 + 13J(\omega_e) + 10J(2\omega_e) + 5J(3\omega_e)]/35 \dots \dots (4) \end{aligned}$$

其中

$$\begin{aligned} J(n\omega_e) &= \frac{1}{1 + (n\omega_e \tau_N)^2} \\ &\cdot \left[1 - e^{-\lambda \tau_0} [\cos(n\omega_e \tau_0) - n\omega_e \tau_N \sin(n\omega_e \tau_0)] \right] / \left[1 - e^{-\lambda \tau_0} \right] \dots \dots (5) \end{aligned}$$

其中 τ_N, λ 分别为⁹⁹Tc $\frac{5}{2}+$ 态的寿命和衰变常数, $\tau_N = 5.2$ ns。

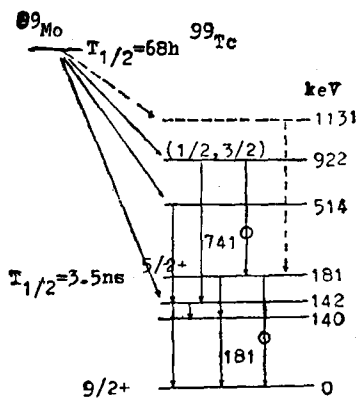


图2 ^{99}Mo 的衰变简图

带○的两条 γ 射线: $E_{\gamma_1} = 741 \text{ keV}$, 及 $E_{\gamma_2} = 181 \text{ keV}$ 。即实验中所测的二条级联跃迁。

在我们的实验中 $\tau_0 = 100\text{ns}$, 而 ^{99}Tc $\frac{5}{2}+$ 态的半寿命是 3.59 ns, 所以 $e^{-\lambda\tau_0}$ 趋向零, 因而

$$J(n\omega_c) = \frac{1}{1 + (n\omega_c\tau_N)^2} \dots\dots (6)$$

式中的 ω_c 为电四极矩相互作用的基频率, 是相对于最小的电超精细相互作用引起的能级劈裂。对于 ^{99}Tc 中间核态 $I = \frac{5}{2}+$, ω_c 可用下式表示:

$$\omega_c = \frac{3}{2I(2I-1)} \cdot \frac{eQ}{\hbar} \cdot \frac{\partial E}{\partial Z}$$

其中 eQ 为 ^{99}Tc 中间态的电四极矩, $\frac{\partial E}{\partial Z}$ 为 ^{99}Mo 离子周围环境中 Z 轴方向上的电场梯度。这个电场梯度与 ^{99}Mo 周围的电荷密度和电荷分布的球对称性有关, 而这些参数又与 ^{99}Mo 的氧化态和与之相结合的配位体结构有关。因此通过扰动角关联 \bar{G}_2 的测量, 可以直接测定 ^{99}Mo 在化合物中的氧化态和配位结构的情况。

二、样品制备和实验方法

1. 样品制备

^{99}Mo 放射性溶液 ($1\text{M}(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$, $\text{pH} = 10$)北京 401 所生产。

Mo(V) 是用 10% $\text{N}_2\text{H}_4\text{SO}_4$ 在酸性条件下还原 Mo(VI) 得到的

将 0.1 M EDTA, 0.1M 酒石酸铵和 0.1M 半胱氨酸分别和 Mo(VI) 、 Mo(V) 溶液在适宜的 pH 条件下混合, 制得相应的 EDTA- Mo(VI) 、酒石酸- Mo(VI) 、半胱氨酸- Mo(VI) 、EDTA- Mo(V) 、酒石酸- Mo(V) 和半胱氨酸- Mo(V) 的络合物。

所有试剂均为分析纯。

2. 实验方法

将几种用 ^{99}Mo 标记的水溶液样品装入 $\phi 3 \text{ mm}$ 的玻璃管内(为了防止管壁吸附, 预先用硅烷处理), 插在干冰和酒精的混合物中致冷冰冻, 然后作积分扰动角关联测量。

积分扰动角关联实验装置方块图见图 3。 ^{99}Tc 的 741 keV~181 keV γ 级联辐射, 分别由二个 NaI(Tl) 探头测量。快慢符合分辨时间分别为 100 ns 和 1 μs 。仪器详细介绍见文献[5]。

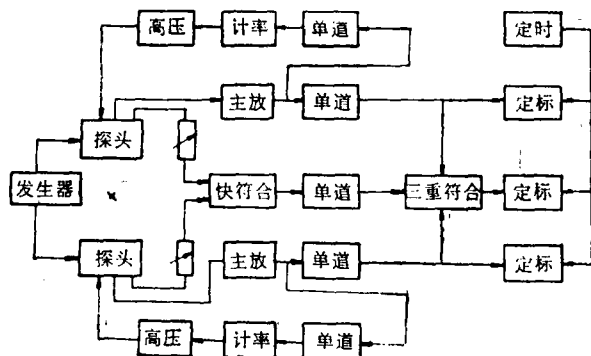


图3 积分扰动角关联实验装置方块图

在二探头夹角 Q 为 90° 、 110° 、 130° 、 150° 、 170° 和 180° 分别获取符合计数率。将获取的数据对角关联函数 $W(Q) = 1 + A_2 \bar{G}_2 P_2(\cos\theta)$ 进行最小二乘法拟合, 并对偶然符合, 探测器立体角、放射源自身衰变进行校正, 最后抽取出每个样品的 \bar{G}_2 值。

三、结果和讨论

钼是一个重要的微量元素。黄嘌呤氧化酶, 硝酸盐还原酶, 亚硫酸盐氧化酶均是含钼的酶, 它们参与了生物体中一系列的氧化还原反应, 起着重要的生理功能。钼在这些酶中是以一定的价态存在, 并和蛋白质的某些残基形成配位键。研究这些酶中钼的氧化态、配位结构

表 1

	Mo(VI)		Mo(V)	
	\bar{G}_2	$\omega_e(10^9)$	\bar{G}_2	$\omega_e(10^9)$
钼 酸	0.565 ± 0.117	0.137 ± 0.051	0.245 ± 0.103	0.588
EDTA	0.318 ± 0.038	0.337 ± 0.073	0.214 ± 0.118	1.086
酒石酸	0.329 ± 0.087	0.318 ± 0.195	0.268 ± 0.060	0.467 ± 0.563
半胱氨酸	0.590 ± 0.122	0.128 ± 0.049	0.504 ± 0.164	0.166 ± 0.100

和酶的活性的关系,对于揭示钼的生理功能及其机理具有极其重要的意义。

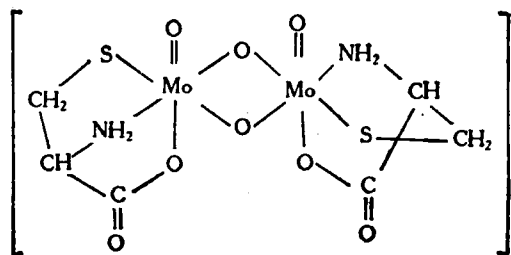
我们研究四种含有不同氧化态的钼的化合物,实验结果见表 1, ω_e 和 ^{99}Mo 周围的电荷密度和电荷密度分布的球对称性有关。我们可以看到 Mo(V) 的 ω_e 明显大于 Mo(VI)。所有 Mo(V) 的化合物的 ω_e 值都大于相应的 Mo(VI) 化合物的 ω_e 值。

固氮酶中的钼可能是以五价的二聚体形式存在,并和蛋白质中的半胱氨酸残基形成配位化合物。

扰动角关联技术可以在液体中研究生物大分子,因此不会破坏它的自然状态。扰动角关联 \bar{G}_2 , ω_e 值反映出的是探针核周围第一层原子形成的电场和探针核的相互作用。尽管生物大分子相当复杂,但还是可以通过研究简单分子模型来研究生物大分子中的探针核的氧化态及其配位体。 ^{99}Mo 是一个扰动角关联源,因此用

EDTA-Mo(VI) 和酒石酸-Mo(VI) 具有相似的 ω_e 。这和 EDTA, 酒石酸都是以二个羧基对称地和钼结合是一致的。然而象半胱氨酸一类具有比较容易极化的 SH 基作为配位体时, ω_e 值明显减小。在类似的条件下,我们测得

固氮酶 (^{99}Mo) 通过培育进入固氮酶的 $\bar{G}_2 = 0.52 \pm 0.05$, $\omega_e = (0.158 \pm 0.024) \times 10^9$ 。和半胱氨酸-Mo(V) 化合物的 \bar{G}_2 , ω_e 值一致。我们知道半胱氨酸-Mo(V) 的结构式^[6]:



扰动角关联技术研究含钼酶中钼的氧化态和配位结构是特别有利的。

参 考 文 献

- [1] Leipert, T. K. et al.: *Nature*, **220**, 907, 1968.
- [2] Sastry, K. S. R. et al.: *Hyperfine Interactions*, **4**, 891, 1978.
- [3] Steffen, R. M. *Phys. Rev.*, **103**, 116, 1956.
- [4] Andrade, P. DA. R. et al.: *Nuclear Physics*, **66**, 545, 1965.
- [5] 扰动角关联组《核技术》, **1**, 32, 1979.
- [6] Knox, J. R. et al.: *Chem. Commun.*, 1227, 1968.

[本文于 1983 年 11 月 1 日收到]