

同核双卟啉金属配合物的合成及其 对细胞色素 P450 模拟^{*}

刘展良¹⁾ 黄锦汪¹⁾ 劳彩玲²⁾ 计亮年¹⁾

(1) 中山大学化学系; (2) 测试中心, 广州 510275)

摘要 合成了 Fe(III)-Fe(III), Mn(III)-Mn(III), Co(II)-Co(II) 3 种同核双卟啉金属配合物, 用元素分析、紫外可见光谱、红外光谱、¹H 核磁共振谱和顺磁共振谱等进行表征。研究了这些同核双卟啉金属配合物模拟细胞色素 p450 催化环己烷羟化作用, 实验结果表明, 同核双卟啉金属配合物具有较高的催化活性, 其催化活性顺序为: Fe(III)-Fe(III) > Mn(III)-Mn(III) > Co(II)-Co(II)。

关键词 双卟啉, 同核双卟啉金属配合物, 细胞色素 P450 模拟体系, 环己烷的羟化作用

分类号 O 614. 33

近年来关于双核或多核金属配合物的合成、性质以及这些配合物对小分子 (O₂, CO₂ 等) 的活化作用的研究越来越受到人们的关注和重视, 这是因为自然界中确实存在不少具有催化活性的双核或多核金属配合物, 它们是作为自然酶的活性中心而存在的^[1]。以柔韧烷氧链相连的单核双卟啉金属配合物 (金属-H) 通常作为光合作用活性中心的模拟体, 对这类化合物的能量转移、电子转移^[2,3] 和荧光性质^[4] 的研究已有不少报道。模拟细胞色素 P450 的催化性质的研究一般集中在单卟啉金属配合物上进行^[5]。同核双卟啉金属配合物作为细胞色素 P450 模拟体的研究尚未见文献报道。本文合成了以柔韧烷氧链相连的双铁 (III)、双锰 (III)、双钴 (II) 配合物 (图 1), 并用元素分析、¹H-NMR、IR、UV-vis、EPR 等对配合物进行了表征。研究了它们模拟细胞色素 P450 催化环己烷羟化作用的性质, 并与相应的单核配合物的催化活性作比较, 结果表明同核双卟啉金属配合物不但具有而且有更的催化活性。

1 实验部分

1.1 试剂

吡咯 (CP, Fluka 公司), 苯甲醛 (AR, 上海试剂一厂), 环己烷 (AR, 广东汕头新宁化工厂) 使用前蒸馏; 硅胶 G (CP, 青岛海洋化工厂)。其它试剂均为 AR, 使用前不做预处理。

1.2 实验仪器及测试条件

Perkin-Elmer 公司 240 型元素分析仪; 日本岛津 MPS-2000 型 UV-vis 光谱仪; Bruker

* 国家自然科学基金、广东省自然科学基金和中科院兰州化物所 OSSO 国家重点实验室资助项目

收稿日期: 1995-07-24 刘展良, 男, 31 岁, 博士, 现在深圳石化集团工作

图 1 各种卟啉的结构

Fig. 1 The structure of porphyrins

IFS 120 HR付里叶变换红外光谱仪 ($4\ 000\sim\ 150\ \text{cm}^{-1}$, CsI压片). Bruker 400 MHz超导核磁共振光谱仪 (CDCl₃为溶剂). Varian E-115顺磁共振仪 (77K,用 X波段, h 4mm石英管中, $10^{-2}\ \text{mol/L}$ 浓度的 CH₂Cl₂溶液,以 DPHH为标准 ($g=2\ 003\ 6$),扫描范围一般 0.8 T,微波频率为 9.460 GHz). 催化产物环己醇 环己酮用岛津 GC-9A型气相色谱仪分析.

1.3 合成

1.3.1 5-对羟基苯基-10, 15, 20-三苯基卟啉 (HPTPP)和 5-对-(4-溴 氧基)苯基-10, 15, 20-三苯基卟啉 (BrBPTPP)的合成 按文献 [6]方法合成,产率分别为 3.8%和 92.3%.

1.3.2 5-对{[4-4(10', 15', 20'三苯基-5'吡吩基)-苯氧基]-1-氧基}苯基-10, 15, 20-三苯基卟啉 (*p*-H₂TPP/*p*-H₂TPP, C₉₂H₆₆N₈O₂)的合成 把 0.360 g BrBPTPP和 0.600 g HPTPP溶于 50 mL DMF中,磁力搅拌下于 65°C反应 10 h,冷却,加入 50 mL CHCl₃,用水洗涤有机相 7~8次,减压蒸去 CHCl₃,得粗产品;粗产品用硅胶 G过柱,首先用氯仿石油醚 (2:1)淋洗,除去未反应 BrBPTPP浅色带,再改用 CHCl₃淋洗,收集主要色带.减压蒸去大部分 CHCl₃后,加入甲醇析出沉淀,得 *p*-H₂TPP/*p*-H₂TPP产品 0.520 g,产率 75.2%.

1.3.3 铁(III)-铁(III)双卟啉配合物的合成 将 *p*-H₂TPP/*p*-H₂TPP 0.200 g,氯仿 30 mL,冰乙酸 30 mL,氯化钠 (10倍量)放入反应器中,加热回流,加入新制的醋酸亚铁溶液,继续回流约 5 h,直至反应接近完全(薄层层析).将反应液倾入水中,用 10% HCl溶液剧烈振荡萃洗 3次,再用水洗 3次,减压旋干,干燥.粗产品用氯仿溶解,在硅胶 G柱上先用 CHCl₃淋洗除去未反应的双卟啉配体,再改用 CHCl₃/甲醇 (70:1)淋洗,收集铁(III)-铁(III)双卟啉配合物主要色带.用 10% HCl萃洗有机相 3次,再用水洗 3次.减压浓缩,加入无水乙醇使其结晶,抽滤得 *p*-Fe(III)TPP/Cl/*p*-Fe(III)TPP/Cl 0.184 g,产率 81.0%.

1.3.4 锰(III)-锰(III)双卟啉配合物的合成 将 *p*-H₂TPP/*p*-H₂TPP 0.150 g,氯仿 30 mL,冰乙酸 30 mL,氯化钠 (10倍量)放入反应器中,加热回流,再加入溶解有 2.0 g

Mn(OAc) 的 20 mL 冰乙酸热溶液,继续回流的 1.5 h,直至薄层层析检查反应接近完全.以 (1.3.3)的方法处理反应液,得粗产品.以氯仿溶解粗产品,在硅胶 G 柱上,先用 CHCl₃ 淋洗除去未反应的配位体,再改用 CHCl₃ 甲醇 (8:1) 淋洗收集锰(III) 锰(III) 双卟啉配合物主要色带,分别用 10% HCl 和水洗涤 3 次,减压浓缩.最后用 CHCl₃ 石油醚重结晶,得 p -Mn(III) TPP Cl / p -Mn(III) TPP Cl · 2H₂O 0.136 g, 产率 78.9%.

1.3.5 钴(II) 钴(II) 双卟啉配合物的合成 将 p -H₂TPP / p -H₂TPP 0.100 g, 氯仿 20 mL, 冰乙酸 20 mL 加热回流,加入溶解有 1.5 g Co(OAc)₂ 的 10 mL 冰乙酸热溶液,再回流 10 min, 迅速将反应液倾入水中,用水洗涤 4 次,减压蒸去氯仿,干燥.用氯仿溶解,迅速在“硅胶 G-氯仿”柱上层析.收集主要的红色色带,浓缩,滴加石油醚,抽滤,得红色晶体 p -Co(II) TPP / p -Co(II) TPP · 2H₂O 0.060 g, 产率 53.8%.

1.3.6 铁(III) 锰(III), 钴(II) 四苯基卟啉配合物的合成 用 1.3.1 合成 HPTPP 所分离出的副产品对称卟啉 H₂TPP 为原料,按类似于文献 [7] 方法合成并表征.

1.4 模拟细胞色素 P450 催化环己烷羟化

催化反应在自制的有夹套的反应器中进行,磁力搅拌,循环水恒温,反应器与 U 形气压计相连以测定体系吸氧量.以纯氧气 (101.325 kPa) 作氧源,分别以各种同核双卟啉金属配合物为催化剂,抗坏血酸 (1.0 mmol) 为还原剂,邻巯基苯甲酸或 2-巯基苯并噻唑为轴向配体,丙酮水 (9:1, 10 mL) 为溶剂,环己烷 (5.55 mmol) 为底物,组成细胞色素 P450 模拟体系,在 (30.0 ± 0.5) °C、常压 (101.325 kPa) 下进行环己烷羟化实验,反应时间为 3.0 h.

2 结果与讨论

2.1 双卟啉及其同核双卟啉金属配合物的表征

2.1.1 元素分析 p -H₂TPP / p -H₂TPP 及其同核双核金属配合物的元素分析数据列于表 1. 从表 1 可以看到,双卟啉及其同核金属配合物的元素组成测定值与理论计算值相符.

表 1 p -H₂TPP / p -H₂TPP 及其同核双核金属配合物的元素分析数据

Tab. 1 Elemental analysis data of p -H₂TPP / p -H₂TPP and its binuclear complexes

化合物	w _C / %	w _H / %	w _N / %
p -H ₂ TPP / p -H ₂ TPP (C ₉₂ H ₆₆ N ₈ O ₂)	84.02 (84.02)	5.02 (5.02)	8.48 (8.52)
p -FeTPP Cl / p -FeTPP Cl (C ₉₂ H ₆₆ Cl ₂ Fe ₂ N ₈ O ₂)	73.44 (73.95)	4.05 (4.15)	7.32 (7.52)
p -MnTPP Cl / p -MnTPP Cl · 2H ₂ O (C ₉₂ H ₆₆ Cl ₂ Mn ₂ N ₈ O ₄)	71.77 (72.99)	4.12 (4.06)	7.37 (7.33)
p -CoTPP / p -CoTPP · 2H ₂ O (C ₉₂ H ₆₆ Co ₂ N ₈ O ₄)	75.90 (75.42)	4.55 (4.51)	7.76 (7.65)

括号中为计算值

2.1.2 紫外可见光谱 双卟啉及其同核金属配合物的紫外可见光谱数据列于表 2 中.从表 2 可知,双卟啉化合物的紫外可见光谱都具有与相应单卟啉化合物基本相同的吸收谱带,某些谱带有一定的红移或蓝移现象,但其 λ 有了增大,说明了双卟啉分子的形成.

2.1.3 红外光谱 p -H₂TPP / p -H₂TPP 的红外光谱中 3 312, 982, 731 cm⁻¹ 吸收谱带归属于卟啉环上吡咯环 N-H 振动谱带,形成 Fe(III), Mn(III), Co(II) 同核配合物后这些谱带消失,而在 1 000 cm⁻¹ 附近出现强吸收峰,说明金属均取代了吡咯环上氢原子 (N-H) 进入了两个卟啉环.同时,所有双卟啉化合物红外光谱中还可以观察到归属于烷氧链的醚键反对

表 2 各种卟啉化合物的紫外可见吸收光谱数据 (CHCl₃ 溶剂)Tab. 2 UV-vis data of porphyrin dimer and its binuclear complexes (CHCl₃)

化合物	sh.	Soret sh.	IV Q _y (0-1)	III Q _y (0-0)	II Q _x (0-1)	I Q _x (0-0)	CT
<i>p</i> -H ₂ TPP/ <i>p</i> -H ₂ TPP	λ_{\max}/nm $\times 10^4$	419.5 93.8	515.7 36.7	551.5 1.74	591.5 1.09	645.5 0.829	
<i>p</i> -FeTPPCl/ <i>p</i> -FeTPPCl	λ_{\max}/nm $\times 10^4$	380.3 12.1	417.9 23.9	510.7 2.7		575.9 0.543	692.7 0.448
<i>p</i> -MnTPPCl/ <i>p</i> -MnTPPCl	λ_{\max}/nm $\times 10^4$	377.1 13.7	402.7 11.7	478.7 24.3	530.7 1.32	583.3 2.38	620.1 2.80
<i>p</i> -CoTPP/ <i>p</i> -CoTPP	λ_{\max}/nm $\times 10^4$		411.5 68.5	527.9 3.72			

称和对称伸缩振动吸收峰,这是连接两个卟啉环间烷氧链存在的证据。从同核双卟啉金属配合物的远红外光谱(表 3)中都可观察到归属于金属离子与吡咯氮配位的 M-N 键振动谱带。钴(II)-钴(II)双卟啉金属配合物的远红外谱带与铁(III)-铁(III)、锰(III)-锰(III)双卟啉金属配合物有较大差别,后两者还能观察到归属于 M-Cl 振动谱带,说明在这些双卟啉金属配合物中,铁、锰离子都以+3 价状态存在,而钴离子是以+2 价状态存在的。

表 3 双卟啉及其同双核金属配合物的远-IR 数据及归属

Tab. 3 Far-infrared band assignment for *p*-H₂TPP/*p*-H₂TPP and its binuclear complexes

<i>p</i> -H ₂ TPP/ <i>p</i> -H ₂ TPP	<i>p</i> -FeTPPCl/ <i>p</i> -FeTPPCl	<i>p</i> -MnTPPCl/ <i>p</i> -MnTPPCl	<i>p</i> -CoTPP/ <i>p</i> -CoTPP	归属
418.2 s	428.1 s	414.1 m	419.3 w	pyrrole core
	371.4 m	383.5 w		$\nu_{\text{M-Cl}}$
340.9 m	325.0 m	334.9 w	341.6 w	pyrrole core
301.4 m	272.8 w	295.9 w	289.6 w	$\nu_{\text{M-N}}$ ring def.
252.2 w	247.5 w	243.0 w	248.0 w	$\nu_{\text{M-N}}$ ring def.
241.4 w	216.6 w	208.4 w	209.9 w	$\nu_{\text{M-N}}$ ring def.
189.6 w	192.4 w		191.3 w	
158.4 w	153.1 m			

2.1.4 ¹H核磁共振谱 *p*-H₂TPP/*p*-H₂TPP的¹H-NMR谱数据与 BrBTPP的数据^[6]相比较,发现 BrBTPP生成双卟啉后,归属于烷氧链中质子的四组峰改变为二组峰(δ 为 4.47, 2.37 ppm),这是双卟啉的烷氧链中只存在 -CH₂O- 和 -CH₂- 两组基因的缘故。双卟啉中吡咯环上 N-H 的质子化学位移仍与 BrBTPP 的相同(δ = -2.76 ppm),但在双卟啉中该化学位移下有 4 个 H,说明同时有两个卟啉环存在。Fe(III)-Fe(III), Mn(III)-Mn(III), Co(II)-Co(II)双卟啉配合物,由于中心离子强的顺磁性,使我们无法获得可分辨的¹H-NMR谱图,但仍能观察到烷氧链的两种环境的 H 化学位移,说明烷氧链的存在,另外 W = -2.76 ppm 的 H 峰消失说明金属离子已配位。

2.1.5 顺磁共振谱 77 K 下 CH₂Cl₂ 中的 *p*-Fe(III)TPPCl/*p*-Fe(III)TPPCl EPR 谱 g 值

为 $g_{\perp} = 5.74$, $g_{\parallel} = 2.12$, 与文献 (Walker 等, 1984) 报道 Fe(III) TPPCl 的 EPR 谱 g 值一样. p -Mn(III) TPPCl/ p -Mn(III) TPPCl, p -Co(II) TPP/ p -Co(II) TPP 也与相应 Mn(III) TPPCl, Co(II) TPP 单卟啉配合物有相同的 EPR 谱. 说明在同核双卟啉配合物中, 中心离子的自旋态是与单卟啉金属配合物相同.

2.2 模拟细胞色素 P450 催化环己烷羟化作用

同核双卟啉金属配合物模拟细胞色素 P450 催化环己烷羟化作用的结果列于表 4, 同时列入了相应的金属卟啉配合物单体的实验结果.

表 4 金属卟啉配合物催化环己烷羟化的实验结果

Tab. 4 The results of hydroxylation of cyclohexane catalyzed by metalloporphyrin dimers and monomers

催化剂 (c/mmol)	轴向配体 (c/mmol)	环己醇 ($C \times 10^3 \text{ mol}$)	环己酮 ($C \times 10^3 \text{ mol}$)	$Y /$ %
p -FeTPPCl/ p -FeTPPCl(0.01)	A(0.5)	33.37	15.99	0.890
	B(1.0)	25.78	15.64	0.747
FeTPPCl(0.02)	A(0.5)	23.00	8.55	0.572
	B(1.0)	14.30	7.84	0.400
p -MnTPPCl/ p -MnTPPCl(0.01)	A(0.5)	20.60	7.62	0.508
	MnTPPCl(0.02)	A(0.5)	14.68	6.72
p -CoTPP/ p -CoTPP(0.01)	A(0.5)	12.60	10.30	0.413
	CoTPP(0.02)	A(0.5)	4.82	4.52

A 邻巯基苯甲酸; B 2-巯基苯并噻唑

同核双卟啉金属配合物作为细胞色素 P450 模拟体系催化环己烷羟化的研究还未见报道, 表 4 清楚地表明, 在以分子氧为氧源时, 同核双卟啉金属配合物对环己烷的羟化作用具有催化作用. 而且具有较高的催化活性, 在相同中心金属离子条件下, 其催化环己烷羟化产率为相应单核金属卟啉配合物的 1.3~2.5 倍. 同核双卟啉金属配合物较高的催化活性可能与双卟啉的独特构象有关. 根据文献 (Brookfield 等, 1985) 报道, 通过苯环上对位以柔韧烷氧链相连的双卟啉存在着开放型和闭合型两种构象的平衡 (图 2), 闭合型构象可能对轴向配体在两个卟啉环内侧的轴向配位形成较大的空间位阻, 从而使小分子氧在与轴向配体的竞争配位中处于有利的地位; 此外, 同核双卟啉金属配合物的较高催化活性还可能与其分子内两个活性中心的协同作用有关, 这种作用还有待进一步研究.

对于不同金属离子的同核双卟啉金属配合物, 其催化活性顺序为: Fe(III)-Fe(III) > Mn(III)-Mn(III) > Co(II)-Co(II), 与我们报道的单核金属卟啉配合物催化环己烷羟化的催化活性顺序一致^[5]. 看来, 铁(III)-铁(III)双卟啉金属配合物具有较高催化活性与铁(III)离子具有适当的半径 (0.064nm) 有关, 已有文献报道, 金属卟啉配合物中金属离子的半径为 0.060~0.069nm 最有助于提高金属卟啉配合物的催化活性^[5]. 我们考察了 p -Fe(II) TPPCl/ p -Fe(III) TPPCl 在二种不同轴向配体时的催化活性, 从表 4 中可见, 作为轴向配体, 无论在双卟啉金属配合物还是铁卟啉单体中,

图 2 双卟啉的构象平衡

Fig. 2 Configuration of porphyrin dimers

邻巯基苯甲酸比 2-巯基苯并噻唑更能提高铁(III)卟啉配合物的催化活性,这可能与邻巯基苯甲酸含有羧基可以调节介质 pH 值呈微酸性而有利于催化反应进行有关^[5]。

参 考 文 献

- 1 Vigato P A, Tamburini S, Fenton D E. The activation of small molecules by dinuclear complexes of copper and other metals. *Coord Chem Rev*, 1990, 100: 25
- 2 Mialocq J C, Gaunotti C, Mailand P, et al. Energy transfer in "covalently linked" and "face to face" bisporphyrins. *Chem Phys Lett*, 1984, 112(1): 87
- 3 黄锦汪,谭俏,覃夏,等. 苯环上取代基的性质对双卟啉分子内能量转移的影响. *高等学校化学学报*, 1992, 13: 115
- 4 Brookfield R L, Ellul H, Harriman A, et al. Luminescence of porphyrins and metalloporphyrins II. energy transfer in zinc-metal-free porphyrin dimers. *J Chem Soc, Faraday Trans, 2*, 1986, 82: 219
- 5 Ji Liangnian, Liu Min, Hsieh Ankong, et al. Metalloporphyrin-catalyzed hydroxylation of cyclohexane with molecular oxygen. *J Mol Catal*, 1991, 70: 247
- 6 计亮年,覃夏,黄锦汪. 新型尾式金属卟啉配合物的合成和表征. *中山大学学报(自然科学版)*, 1993, 32(2): 1
- 7 Ji Liangnian, Liu Min, Hsieh Ankong. Syntheses and characterization of some porphyrins and metalloporphyrins. *Inorg Chim Acta*, 1990, 178: 59

The Synthesis of Porphyrin Dimers with Bis-Iron(III), Bis-Manganese(III), Bis-Cobalt(II) and as the Model of Cytochrome P450 to Catalyze Hydroxylation of Cyclohexane

Liu Zhanliang* Huang Jinwang Lao Cailin Ji Liangnian

Abstract Bis-iron(III), bis-manganese(III) and bis-cobalt(II) porphyrins dimers linked by flexible alkoxyl chains have been synthesized and characterized by EA, IR, UV-vis, ¹H-NMR and EPR spectroscopy. These binuclear complexes as model systems of cytochrome P450 are effective for the hydroxylation of cyclohexane with molecular oxygen under mild conditions and have better catalytic activities than the corresponding monomers. The catalytic activities of binuclear complexes decrease in following order: bis-iron(III) > bis-manganese(III) > bis-cobalt(II).

Keywords porphyrin dimer, binuclear complexes, model system of cytochrome P450, hydroxylation of cyclohexane

* Department of Chemistry, Zhangshan University, Guangzhou 510275