

各种金属卟啉催化环己烷的羟化作用

计亮年 刘 敏

(中山大学生物工程研究中心, 化学系, 广州 510275)

谢安康

(国立新加坡大学化学系, 新加坡)

金属卟啉、分子氧、抗坏血酸和底物构成细胞色素 P450 模拟体系, 实现了在常温常压下环己烷选择氧化为环己醇和环己酮, 产品环己醇和环己酮是与金属卟啉周围取代基的类型密切相关, 研究了中心金属离子, 轴向配体, 底物和催化剂的比例, 以及 pH 对反应的影响, 最后提出了金属卟啉活化分子氧的反应机理。

关键词: 金属卟啉 细胞色素 P450 环己烷

引 言

迄今, 还没有用化学方法在常温常压下实现 $-CH$ 转变为 $-COH$ 。但是, 用细胞色素 P-450 作为催化剂转变烷烃为相应的醇已引起很多化学工作者的极大重视。使用加单氧化合物, 如 $PhIO_3$, $NaOCl$, $ROOH$, 和 $KHSO_5$, 以及金属卟啉作为催化剂氧化烃类和不饱和有机化合物, 将 $R-H$ 转化为相应的 $R-OH$ 已进行了大量研究工作。但在结构上类似于自然细胞色素 P450 体系的模拟卟啉并以分子氧作为氧化剂的体系, 特别是以烷烃作为底物至今研究报道还较少。本文以某些新型金属卟啉作为催化剂^(1,2,3), 并和分子氧, 抗坏血酸, 和轴向配体例如硫化物, 吡啶和咪唑等组成细胞色素 P-450 模拟体系, 在各种实验条件下, 研究了环己烷氧化环己醇和环己酮, 并进行了相应的讨论。

实 验 部 分

环己烷(AR)使用前先用中性活性铝柱移去痕量氧化物, 其他试剂均为分析纯或化学纯, 使用文献[1,2,3]的方法合成卟啉和金属卟啉, 结果见表 1。以金属卟啉, 还原剂, 溶剂和一定量的底物混合在 $30 \pm 0.5^\circ C$ 的反应管中, 并通入纯氧, 磁力搅拌, 通过连接量气管连续测定反应过程氧的吸收量, 同时产物可分别用气相色谱(Shimadzu GC-9A)和紫外可见光谱(Shimadzu MPS-2000)进行分析和析测。

结 果 与 讨 论

对应于自然酶中细胞色素 P450-NADPH- O_2 的模拟体系是由金属卟啉(MP), 还原剂和

表 1 合成的卟啉和金属卟啉

Table 1 Synthetic Porphyrins and Metalloporphyrins

No	phenyl substituents	porphyrins	metalloporphyrins
1	(3,4,5-OCH ₃) ₄	TTOMPP	FeTTOMPPCl MnTTOMPPCl CoTTOMPPCl
2	(<i>m</i> -OCH ₃ , <i>p</i> -OH) ₄	THMPP	FeTHMPPCl MnTHMPPCl CoTHMPPCl
3	(<i>o</i> -OCH ₃) ₄	TOMPP	FeTOMPPAc MnTOMPPAc
4	(<i>p</i> -Cl) ₄	TPCPP	FeTPCPPCl MnTPCPPCl
5	(<i>p</i> -OCH ₃) ₄	TMPP	FeTMPPCl MnTMPPCl
6	(<i>o</i> -OC ₂ H ₅) ₄	TOEPP	FeTOEPPCl
7	(<i>o</i> -Br) ₄	TOBPP	FeTOBPPCl
8	(<i>p</i> -NO ₂) ₄	TNPP	FeTNPPAc
9	(<i>o</i> -NO ₂ , <i>p</i> -NO ₂) ₄	TENPP	FeTENPPCl
10	(<i>m</i> -Cl) ₄	TMCPP	FeTMCPPCl

表 2 不同卟啉配体对催化活性的影响

Table 2 Effects of Different Porphyrin Ligands on the Catalytic Activity (t=30℃)

catalyst (0.02 mmol)	cyclohexanol mmol(yield%)	cyclohexanone mmol(yield%)
FeTHMPPCl	0.171(2.85)	0.131(2.18)
FeTOMPPCl	0.140(2.33)	0.072(1.20)
FeTTOMPPCl	0.117(1.95)	0.084(1.40)
FeTOEPPCl	0.110(1.83)	0.047(0.78)
FeTPCPPCl	0.093(1.55)	0.090(1.50)
FeTPP	0.084(1.40)	0.057(0.95)
FeTMPPCl	0.079(1.17)	0.061(1.02)
FeTMCPPCl	0.057(0.95)	0.035(0.58)
FeTOBPPAc	0.051(0.85)	0.010(0.17)
FeTNPPAc	0.014(0.23)	0.011(0.18)

cyclohexane 6.0mmol ascorbic acid 1.0mmol

solvent: [acetone: water=9:1] 5ml

纯氧组成。不同的卟啉结构，中心金属离子，轴向配体，pH，以及底物和催化剂的比例对模拟体系羧化环己烷的影响分别见表 2、表 3 及表 4、表 5、表 6。从表 2 可见，对于不同铁卟啉，它们的催化活性次序为：FeTHMPPCl > FeTOMPPCl > FeTTOMPPCl > FeTOEPPCl > FeTMPPCl > FeTPCPPCl > FeTPP > FeTMCPPCl > FeTOBPPAc > FeTNPPAc。对于 FeTHMPPCl 具有最高催化活性是由于卟啉环中含有两个推电子基团 *m*-OCH₃ 和 *p*-OH。推电子基团越强，使得氧分子上的反键轨道具有更富电子，引起 O-O 键削弱松断以至断裂，即 O₂ 被活化了。但从另一方面，MP 在催化活化 O₂ 还原的同时，本身亦会发生氧化破坏，若大环上有拉电子基团，使得卟啉环缺电子，则这种自氧化的破坏作用就可以降低甚至停止，可见这两种相对的电子效应在某些情况下是相辅相成的。妨碍 MP 发挥其催化作用的另一个原因是形成了非活性形式 (MP)₂O，FeTTOMPPCl 对羟基化具有较高产率，可能由于它在邻位位置存在 -OCH₃，由于位阻效应相隔距离增大，形成双聚体的机会减少。FeTOBPPAc (虽

表 3 不同金属卟啉对催化活性的影响

Table 3 Effects of Different Metalloporphyrins on the Catalytic Activity ($t=31^{\circ}\text{C}$)

catalyst (0.02mmol)	time (hours)	cyclohexanol mmol(yield%)	cyclohexanone mmol(yield%)
FeTHMPPCl	2.5	0.172(2.87)	0.129(2.15)
MnTHMPPCl	2.5	0.041(0.68)	0.030(0.50)
CoTHMPP	2.5	0.039(0.65)	0.021(0.35)
FeTOMPPPOAc	2.5	0.138(2.30)	0.071(1.18)
MnTOMPPPOAc	2.5	0.029(0.49)	0.006(0.10)
FeTTOMPPCl	3.0	0.113(1.88)	0.094(1.57)
MnTTOMPPCl	3.0	0.028(0.49)	0.033(0.54)
CoTTOMPP	3.0	0.011(0.19)	0.018(0.31)
FeTPCPPCl	3.0	0.094(1.56)	0.091(1.51)
MnTPCPPCl	3.0	0.032(0.53)	0.019(0.32)

cyclohexane 6.0 mmol, ascorbic acid 1.0 mmol,

solvent: [acetone:buffer(pH=6)=9:1](5ml)

表 4 不同轴向配体对催化活性的影响

Table 4 Effects of Different Axial Ligands on the Catalytic Activity(time 8 hours, $t=30^{\circ}\text{C}$)

(A) FeHMPPCl (0.03mmol)		
axial ligand (6.0mmol)	cyclohexanol mmol(yield%)	cyclohexanone mmol(yield%)
thiosalicylic acid	0.190(3.17)	0.101(1.68)
thiophenol	0.054(0.87)	0.025(0.41)
thioalcohol	0.032(0.53)	0.020(0.33)
thioglycolic acid	0.022(0.37)	0.009(0.16)
3-thiohydraacrylic acid	0.039(0.65)	0.018(0.30)
thiophane	0.014(0.23)	trace
2-methyl-benzothiazole	0.049(0.82)	0.062(1.03)
pyridine	0.043(0.72)	0.004(0.06)
collidine	0.003(0.005)	0.004(0.07)
imidazole	0.013(0.21)	0.007(0.12)
1-methylimidazole	0.013(0.21)	trace
thioalcohol-pyridine	0.053(0.89)	0.192(3.20)
(B) FeTTOMPPCl (0.03mmol)		
thioglycolic acid-pyridine	0.280(4.60)	0.091(1.08)
thioalcohol-pyridine	0.092(1.53)	0.110(1.83)

cyclohexane 6.0mmol, solvent:(acetone:water=9:1)5ml

然邻位也有取代基,但由于邻位 Br 的拉电子效应使催化活性降低。FeTNPP·OAc 没有邻位效应,在对位又带有拉电子基团,故活性最低。由表 3 可见,Fe(III)P, Mn(III)P 和 Co(III)的 dz 轨道是半空或全空的,它们与 O_2 配位后, σ 配键较强,有利于 O—O 活化断裂,它们具有最高催化活性,而 Cu(II)P 和 Ni(II)P, 充满 d 轨道,它们没有催化加氧活性。不同金属卟啉的催化活性为 $\text{FeP} > \text{MnP} > \text{CoP}$, FeP 最有较高催化活性可能由于 Fe(III)的半径为 0.64 Å, 过大或过小都会使金属卟啉分子变形之故。表 4 研究了三种轴向配体对催化性能的影响,第一类轴向配体含有 $-\text{SH}_2$, 这类配体含有给电子效应,它们具有较高催化活性。第二类轴向配体以氮作为配位原子通过 σ 或 π 配键与中心金属离子结合。这类配体的产率较差是由于轴向配体与分子氧对中心金属离子产生竞争之故。第三类轴向配体是既加入硫化化合物又加入含

氮配体, 催化效果显著提高, 此时体系具有与 cyto-P450 相似的电子光谱⁽⁴⁾ (Fe(III)处于高自旋状态), 说明体系较接近 cyto-P450 自然酶的电子结构状态之故。pH 对催化活性的影响列于表 5 中, 体系呈弱酸性时催化效率较佳, pH 值过高或过低都会破坏催化剂, 而 cyto-P450 在生物体内的作用亦是接近中性的。由表 6 可见, 催化剂的用量越大, 环己烷转化环己酮和环己醇的产量越大。

表 5 pH 对催化活性的影响

Table 5 Effect of pH on the Catalytic Activity

axial ligand	pH	cyclohexanol(mmol)	cyclohexanone(mmol)
L-cysteine (0.06mmol)	4.0	1.11×10^{-2}	9.90×10^{-3}
	6.0	1.67×10^{-2}	1.64×10^{-2}
	8.0	8.30×10^{-4}	7.80×10^{-4}
thiophenol (0.06mmol)	4.0	5.90×10^{-2}	1.88×10^{-2}
	6.0	6.20×10^{-2}	2.93×10^{-2}
	8.0	3.40×10^{-3}	trace

cyclohexane(6.0 mmol), FeTHMPPCl(0.02mmol)

solvent: acetone : buffer (pH=9) 5ml, $t=30^{\circ}\text{C}$, time: 8hours

表 6 底物 / 催化剂对催化活性的影响

Table 6 Effect of [sub] / [CAT] on the catalytic activity

FeTHMPPCl (mmol)	[sub] [CAT]	cyclohexanol mmol(yield%)	cyclohexanone mmol(yield%)
0.005	1260	micro	micro
0.010	600	0.020(0.34)	0.010(0.160)
0.020	300	0.057(0.95)	0.026(0.43)
0.030	200	0.068(1.13)	0.031(0.52)
0.040	150	0.072(1.20)	0.040(0.67)

cyclohexane (6.0mmol), thiophenol(6.0mmol), $t=30^{\circ}\text{C}$

solvent (acetone : water=9 : 1)5ml, time:24hours

用金属卟啉作为催化剂以氧与环己烷能参与反应表明, O_2 和 RH(至少在一定程度上)被 MP 活化了。由于室温下不能形成足够稳定的中间体 $\text{O}_2\text{-MP}$, 任何直接的光谱研究都有困难, 但可以肯定氧的活化是由于在 $\text{O}_2\text{-MP}$ 中间体中氧的反键轨道上填充了某些电子。用 ESR 于低温下可以探测到体系 FeTPPCL- O_2 -MGE(与本文的催化体系相似)中有超氧 O_2^- 形式存在⁽⁵⁾。对自然酶体系 cytoP450 和 cytoP450- O_2 也进行了直接测定⁽⁶⁾。本实验用电子光谱于室温下对 MP 催化 O_2 的活化还原进行研究, 体系除了不加底物外实验条件类似于羟化反应, 两体系 (a) 和 (b) 组成分别如下:

(a) FeTHMPPCl(0.02mmol)—抗坏血酸(1.0mmol)— Me_4NOH

(b) FeTHMPPCl(0.02mmol)—邻巯基苯甲酸(6.0mmol)— Me_4NOH

加入 Me_4NOH 是防止催化剂的自氧化破坏, 体系(a)的电子光谱有两个吸收峰分别在 577.5nm 和 615.8nm。它们的波数和形状与体系 FeTPPCL- O_2 -TGE- Me_4NOH 报告的可见光谱相似, 而后者已有 ESR 探明具有“超氧”形成⁽⁷⁾。体系 (b) 的两个吸收峰分别在 535nm 和 609nm, 同样类似于已报告的 FeTPPCL- KO_2 (crown ether)体系⁽⁸⁾, 因此本研究体系应该

也具有超氧形式。用电子光谱还研究了 MnTMPPCl-O_2 -邻巯基苯甲酸体系,反应开始时,呈棕色且 $\lambda_{\text{max}} = 477\text{nm}$,随着反应进行, 477nm 峰下降, 426nm 处出现吸收峰, 溶液呈棕绿色。已有报道 PMn(V)=O 特征吸收峰于 425nm 附近⁽⁹⁾。可见催化体系中绿色化合物就是 PMn(V)=O 。当加入底物后, 该峰逐渐下降, 反应结束后溶液又变为棕色。

参 考 文 献

- (1) 郑颖、曾添贤、计亮年, 无机化学学报, 4(4), 54(1988).
- (2) Ji, L.N., Liu, M., Hsieh, A.K., *Inorganica Chimica Acta*, 178, 59-65(1990).
- (3) Ji, L.N., Liu, M., Hsieh, A.K. et al., *Inorganica Chimica Acta* 174, 21 (1990).
- (4) Sakura, H., Shimomura, S., Fukuzawa, K., Ishizu, K., *Chem. Pharm. Bull.*, 26, 1348 (1978).
- (5) Jajima, K., Sakamoto, M., Okada, K., Mukai, K., Ishizu, K., Sakurai, H., Mori, H., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 115, 1002(1983).
- (6) Kuthan, H., Ullrich, V., *Eur. J. Biochem.*, 126, 583(1982).
- (7) Sakurai, H., Ishizu, K., Okada, K., *Inorg. Chem. Acta*, 91, L9(1984).
- (8) Mccandlish, E., Miksztal, A.R., Nappa, M. et al., *J. Amer. Chem. Soc.*, 102, 4269(1980).
- (9) Groves, J.T., Watanabe, Y., Mcmurry, T.J., *J. Amer. Chem. Soc.*, 105, 4489 (1983).

HYDROXYLATION OF CYCLOHEXANE CATALYZED BY VARIOUS METALLOPORPHYRINS

Ji Liangnian Liu Min

(Biotechnology Research Center, Department of Chemistry, Zhongshan University, Guangzhou 510275)

Hsieh Ankang

(Department of Chemistry, National University of Singapore, Singapore)

The selective oxidation of cyclohexane to cyclohexanol and cyclohexanone was realized in the model system of cytochrome P-450 consisting of metalloporphyrins, molecular oxygen, ascorbic acid and substrate. The products, cyclohexanol, and cyclohexanone were found to be sensitive to the peripheral substitution pattern of the metalloporphyrins. The effects of the central metal ion, the axial ligand, the ratio of substrate to catalyst, and pH on the reaction were investigated and finally the reaction mechanism of the activation of molecular oxygen by the metalloporphyrins was proposed.

Keywords: metalloporphyrin cytochrome P-450 cyclohexane