

氯化原卟啉 IX 二甲酯合钴(III)的合成 及其与咪唑反应动力学的研究

边平凤* * 阎卫东* 刘湘兰

(浙江大学化学系, 杭州 310027)

从原卟啉 IX (PPIX) 出发合成氯化原卟啉 IX 二甲酯合钴(III), 分别用元素分析、UV 光谱和 IR 光谱表征。298K 时, 测定氯化原卟啉 IX 二甲酯合钴(III)与咪唑反应在丙酮或二氯甲烷溶剂中的表观速率常数 k_{obs} , 结果表明反应的决速步是单分子咪唑中间体 $Co(III)PPIXDME(RIm)Cl$ 中氯的离解, 总反应速率方程对咪唑是一级反应; 氯离解的速率常数 k_1 依赖于溶剂与氯形成氢键的能力, 即“远位咪唑氢键效应”; 当咪唑中出现 2-甲基、2-苯基时, 由于取代基与卟啉配位体之间的相互作用, 促使反应氯的离解速率增加, 产生“近位张力效应”。

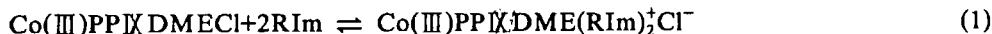
关键词: 氯化原卟啉 IX 二甲酯合钴 咪唑 合成 动力学研究

引 言

近年来, 生物无机化学家对金属卟啉化合物的研究越来越感兴趣, 主要是金属卟啉化合物与生命过程密切相关, 例如, 血红素(铁卟啉)在血红蛋白的载氧过程中起着关键的作用。人们合成了大量血红蛋白的模拟化合物—金属卟啉, 通过研究模拟化合物与不同取代咪唑反应的动力学性质, 揭示血红蛋白可逆载氧过程的远位氢键效应和近位空间效应, 取得了一定进展^[1~3]。

铁卟啉作为血红蛋白的模拟化合物, 虽然结构和性质相似, 但它与咪唑反应的速率很快(半衰期 $t_{1/2}$ 均小于 $0.3s$ ^[2,3]), 中间体极不稳定, 必须在低温($-85^{\circ}C$)测定。本文合成了氯化原卟啉 IX 二甲酯合钴(III) ($Co(III)PPIXDMECl$) 作为血红蛋白的模拟化合物。其优点在于, 不仅与血红素结构相似, 而且与咪唑反应的速率低, 便于常温下测定。另外反应的中间体在常温时稳定, 可以分离出来, 作为拟定反应历程的依据。

本文测定了在丙酮或二氯甲烷中, $Co(III)PPIXDMECl$ 和 RIm 反应:



的速率常数, 讨论了反应机理和溶剂的氢键效应以及取代咪唑对反应速率常数的影响。

实 验

一. 仪器 Yanaco 微熔点仪(日本); PE-240C 元素分析仪(美国); Nicolet 5DX 付里叶变换红外光谱仪(KBr 压片, 美国); 带有恒温装置的 UV-240 分光光度仪(日本), 恒温精度 $\pm 0.5K$;

本文于1993年2月23日收到。

* 通讯联系人。

* * 现在浙江医科大学工作。

DDS-11型电导仪。

二. 试剂 反应(1)对水或质子溶剂非常敏感, 对所用试剂和容器必须事先除尽水份。丙酮(分析纯)分别用 KMnO_4 和 CaH_2 处理, 氮气氮中蒸馏, 使用前用分子筛干燥 45min, 充氮气的手套袋中过滤。二氯甲烷(分析纯), CaH_2 干燥, 氮气氮中蒸馏。咪唑(HIm)和取代咪唑(2-MeIm、2-phIm)均为分析纯, 用二氯甲烷重结晶两次, 60°C 下真空干燥恒重。配制溶液须在充氮气的手套袋中进行。

三. 合成 从原卟啉IX出发, 按下列几步合成得到 Co(III)PPIXDMECl 。因卟啉化合物对光都很敏感, 合成均在避光条件下进行。

1. 原卟啉IX二甲酯(PPIXDME)的合成: 原卟啉IX钠盐 0.2g 加入 25ml 甲醇, 冰浴中滴加 0.5ml 浓 H_2SO_4 , 放置数小时后, 用固体 NaHCO_3 中和, 加水析出沉淀, 过滤得紫红色粗产物。粗产物用中性氧化铝色谱分离, 洗脱剂为苯(8): 氯仿(2), 收集并浓缩鲜红色的第一洗脱液, 析出沉淀, 再用甲醇(95): 氯仿(5)重结晶, 得紫红色有光泽的晶体, 150°C 真空干燥。

m. p. $224\sim 226^\circ\text{C}$ [4]; $\text{C}_{36}\text{H}_{38}\text{N}_4\text{O}_4$ (计算值: C, 73.19; H, 6.49; N, 9.49。实验值: C, 73.60; H, 6.79; N, 8.97); $\lambda_{\max}(\text{CHCl}_3)$: 407(Soret带), 506(IV), 541(III), 576(II), 630(I) nm (文献值 [4]: 407, 507, 541, 574, 631 nm)。 $\nu_{\max}(\text{KBr压片})$: 3400(NH), 1735(C=O), 1195, 1165-1175(-COO-), 1440(-OCH₃) cm^{-1} 。

2. Co(II)PPIXDME 的合成: 氮气氮中 0.2g PPIXDME 与过量的 $\text{Co}(\text{Ac})_2$ 在 DMF 中回流 3h。冷却后, 过滤并浓缩鲜红色滤液至约 5ml, 加水析出沉淀, 过滤得粗产物。中性氧化铝色谱分离, 洗脱剂为氯仿, 收集第二色带洗脱液, 减压蒸馏除去溶剂, 固体用苯重结晶一次, 得紫褐色的晶体, 150°C 真空干燥。 $\text{CoC}_{36}\text{H}_{36}\text{N}_4\text{O}_4$ (计算值: C, 66.53; H, 5.60; N, 8.65。实验值: C, 65.93; H, 5.85; N, 8.26)。 $\lambda_{\max}(\text{CHCl}_3)$: 401(Soret带), 529(β), 558(α) nm [5]。 $\nu_{\max}$:

1735(-C=O), 1195, 1165-1175($-\overset{\text{O}}{\underset{\text{O}}{\text{C}}}-\text{O}-$), 1440(-OCH₃), 1245(=N-Co), 480(=N-Co) cm^{-1} 。

3. Co(III)PPIXDMECl 的合成: 0.2g Co(II)PPIXDME 加入甲醇:HCl(291:9)溶液中, 在空气中搅拌氧化至 UV 光谱图不再变化为止。过滤并浓缩滤液至析出沉淀, 粗产物用二氯甲烷溶解, 过滤, 滤液中滴加戊烷至析出沉淀, 真空干燥, 得墨绿色无光泽的产物。 $\text{CoC}_{36}\text{H}_{36}\text{N}_4\text{O}_4\text{Cl}$ (计算值: C, 63.33; H, 5.31; N, 8.20。实验值: C, 62.51; H, 5.81; N, 8.81)。 $\lambda_{\max}(\text{Me}_2\text{CO})$: 429.9, 544.3, 574.0 nm。 $\nu_{\max}$: 1735(C=O), 1195, 1165~1175(-COO-), 1440(-OCH₃), 1245(=N-Co), 600, 530(=N-Co) cm^{-1} 。

四. 中间体 $\text{Co(III)PPIXDME(RIm)Cl}$ 的合成 将浓度为 $10^{-4}\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ 的 RIm 丙酮溶液慢慢滴入相同体积和浓度的 Co(III)PPIXDMECl 丙酮溶液中, 溶液转变为棕绿色, 在黑暗中浓缩至析出沉淀, 过滤, 100°C 真空干燥得墨绿色晶体。 $\text{CoC}_{39}\text{H}_{40}\text{N}_6\text{O}_4\text{Cl}$ (RIm=HIm) (理论值: C, 62.36; H, 5.37; N, 11.19。实验值: C, 62.02; H, 5.46; N, 11.26)。 $\lambda_{\max}(\text{Me}_2\text{CO})$: 428.0, 542.5, 577.0 nm。

如果加入过量的 RIm, 可以得到最终产物。RIm=HIm 时, $\lambda_{\max}(\text{Me}_2\text{CO})$: 429.2, 543.0, 577.5 nm; 摩尔电导 $\Lambda_m(\text{Me}_2\text{CO}, 298\text{K})$: $108\text{S}\cdot\text{cm}^2\cdot\text{mol}^{-1}$, 说明最终产物是 1:1 型的六配位的配离子。

五.动力学研究 所有溶液的配制和反应物的预混合均在充氮气的手套袋中进行。Co(III)PPIX DMECl 的浓度为 $5 \times 10^{-6} \sim 5 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$, RIm(HIm, 2-MeIm, 2-phIm)的浓度为 $0.001 \sim 0.015 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ 。测定反应(1)溶液的吸光度 A 随时间的变化, 波长 $450.0 \text{ nm}(\text{Me}_2\text{CO})$ 或 $427 \text{ nm}(\text{CH}_2\text{Cl}_2)$ 。

结 果 与 讨 论

表观速率常数的求取: 因为 RIm 的浓度大大过量, 实验数据按拟一级反应处理, 即将吸光度数据代入一级反应动力学方程式

$$\ln(A_t - A_\infty) = -k_{\text{obs}}t + \ln A_\infty \quad (2)$$

式中 t 为时间(s), A_t 和 A_∞ 为 $t=t$ 和 $t=\infty$ 时的吸光度, k_{obs} 为表观速率常数(s^{-1})。用最小二乘法拟合, 结果见表 1, 相关系数均大于 0.99。 k_{obs} 随 RIm 浓度增加而增大。

表 1 Co(III)PPIX DMECl 与不同咪唑反应的表现速率常数^a 298K

Table 1 Observed Rate Constants for the Reaction of Co(III)PPIX DMECl with RIm 298K

RIm	solvent	[RIm] $\times 10^3$	k_{obs}	Co ^b	RIm	solvent	[RIm] $\times 10^3$	k_{obs}	Co
HIm	Me_2CO	1.5	0.595	0.985	HIm	CH_2Cl_2	1.5	1.35	0.970
		2.1	0.690	0.999			4.7	3.45	0.987
		4.7	0.952	0.999			7.2	4.08	0.972
		7.5	1.064	0.999			9.3	4.55	0.995
		9.5	1.136	0.998			12.5	5.00	0.998
		11.0	1.163	0.996					
2-MeIm	CH_2Cl_2	1.2	1.94	0.996	2-phIm	CH_2Cl_2	0.55	2.25	0.998
		2.4	3.33	0.987			1.1	4.06	0.999
		4.8	4.54	0.992			2.7	7.30	0.997
		9.9	5.55	0.985			5.3	9.17	0.987
		12.7	6.06	0.988			7.6	9.62	0.993

a. Units are mol / dm^3 for [RIm]; Unit are s^{-1} for k_{obs} .

b. Co is correlation coefficient.

中间体的表征: 冰浴中将 RIm 慢慢加入 Co(III)PPIX DMECl 的丙酮溶液中, 溶液的颜色很快转变为棕绿色。图 1 为有代表性的 UV 光谱的变化, 最终产物 $\text{Co(III)PPIX DME(RIm)}_2\text{Cl}^-$ 的光谱是将棕绿色溶液加热至 35°C , 放置一段时间后, 再冷至 0°C 测得的。棕绿色溶液的光谱与合成得到的中间体一致, 将中间体配成丙酮溶液与过量的 RIm 反应, 可以得到与图 1 中 3 相同的光谱图。

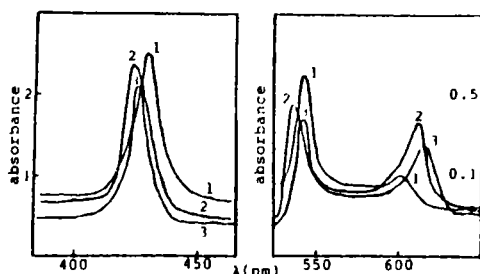
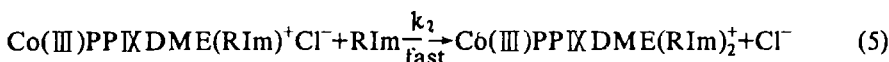
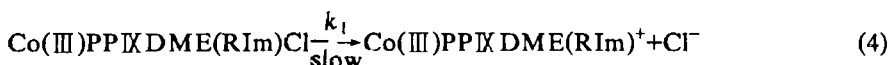
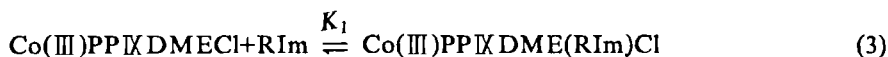


图 1 273K 丙酮溶剂中 UV 谱图

Fig. 1 Optical spectra in acetone at 273K (1) Co(Ⅲ)PPIX DMECl;

(2) Co(Ⅲ)PPIX DME(HIm)Cl; (3) Co(Ⅲ)PPIX DME(HIm)₂⁺Cl⁻

反应机理的拟定: 从上面的实验现象和分析得知, Co(Ⅲ)PPIX DMECl 与 RIm 反应, 先生成中间体 Co(Ⅲ)PPIX DME(RIm)Cl, 然后慢慢转变为最终产物, 反应机理为:



其中, 第一步快速建立前平衡; 第二步配位体氯的离解, 为慢步骤, 是反应(1)的决速步; 第三步配位反应为快反应。

按照上面的反应机理, 可导出

$$k_{\text{obs}} = \frac{k_1 K_1 [\text{RIm}]}{1 + K_1 [\text{RIm}]} \quad 6a$$

或

$$1/k_{\text{obs}} = 1/k_1 + 1/k_1 K_1 [\text{RIm}] \quad 6b$$

根据表 1 的数据, 用最小二乘法拟合, 结果列于表 2, 相关系数均大于 0.95, 表明拟定的反应机理是合理的。

表 2 Co(Ⅲ)PPIX DMECl 与 RIm 反应的动力学数据 298K

Table 2 Rate Data for the Reaction of Co(Ⅲ)PPIX DMECl with RIm 298K

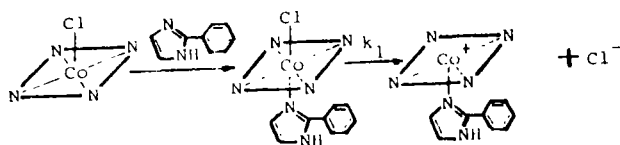
RIm	solvent	$kFS_1 \times 10^3 / s$	$K_1 / (\text{mol} / l)$	$SD^a \times 10^3$	Co
HIm	Me ₂ CO	1.35	519	0.01	0.998
HIm	CH ₂ Cl ₂	6.25	275	0.04	0.999
2-MeIm	CH ₂ Cl ₂	7.95	270	0.10	0.997
2-phIm	CH ₂ Cl ₂	14.82	326	0.34	0.998

a. SD is standard deviation of k_{obs} .

溶剂氢键效应: 从表 2 数据可知, 当 RIm = HIm 时, 溶剂不同, 反应的 k_1 不同 $k_1(\text{CH}_2\text{Cl}_2)$: $k_1(\text{Me}_2\text{CO}) = 4.6$, 这种变化与 Co(Ⅲ)TPPCl 体系相似^[3]. 这可用溶剂形成氢键能力的函数

AN 值^[7]来解释, AN 越大越易形成氢键, 丙酮和二氯甲烷的 AN 值分别为 12.5 和 20.4^[8], 因此当二氯甲烷作溶剂时, 易与电负性大的氯配位体形成氢键, 从而削弱了 $\text{Co}-\text{Cl}$ 键, 即加速反应(4)中氯的离解速率。这种溶剂氢键效应类似于血红蛋白中的远位咪唑氢键效应, 这种效应影响血红蛋白的键氧能力^[9]。

近位作用效应: 从表 2 知, 当咪唑有 2-位取代基(2-MeIm, 2-phIm)时, 反应的速率常数 k_1 增大, 顺序为: $\text{HIm}(1) < 2\text{-MeIm}(1.3) < 2\text{-phIm}(2.4)$ 。这是因为当咪唑 2 位有取代基时, 取代基与配位体卟啉环之间的相互作用增大, 导致六配位的中间体 $\text{Co(III)PPIXDME(RIm)Cl}$ 中的钴被拉出卟啉环平面并指向第六配位体咪唑, 削弱 $\text{Co}-\text{Cl}$ 配位键, 加速了氯的离解。2-位取代基基团越大, 则 k_1 越大, 即反应速率常数 k_1 增大的顺序为: $\text{HIm} < 2\text{-MeIm} < 2\text{-phIm}$ 。



基于上述讨论知, 当 RIm 有 2-位取代基时, 取代基的近位作用效应将削弱 $\text{Co}-\text{Cl}$ 键, 促使氯的离解, 即反应速率常数 k_1 增大。这是对血红蛋白中“近端张力效应”的一种模拟研究。从研究结果推知, 在血红蛋白中, 如果近位咪唑有 2-位取代基时, 血红蛋白的键氧能力将削弱。

用本文合成得到的 Co(III)PPIXDMECl 作为血红素的一种模拟化合物, 在常温下研究远位氢键效应和近位作用效应, 将有助于阐明影响血红蛋白与氧结合活性的因素以及结合的机理, 为将来人们能合成出具有生物活性的人造血作一点探索性研究。

参 考 文 献

- [1] Doeff, M. M., Swigart, D. A., *Inorg. Chem.*, **21**, 3699 (1982).
- [2] Meng, Q. J., Tondreau, G. A., Edwards, J. O., Swigart, D. A., *J. Chem. Soc. Dalton, Trans.*, 2269 (1985).
- [3] Mahmood, A., Liu, H. L., Swigart, D. A., *Inorg. Chem.*, **27**, 2149 (1988).
- [4] Grinstein, M., *J. Biol. Chem.*, **165**, 515 (1947).
- [5] Dokuzovic, Z., *Inorg. Chem.*, **21**, 1578 (1982).
- [6] 汪玉廷、黄素秋, 化学学报, **44**, 955 (1986).
- [7] Gutmann, V., *The Donor-Acceptor Approach to Molecular Interactions*, Plenum Press, New York, (1978).
- [8] Parker, A. J., May, U., *J. Org. Chem.*, **43**, 1843 (1978).
- [9] Stein, P., Spiro, I. G., *J. Am. Chem. Soc.*, **102**, 7785 (1982).

SYNTHESIS OF Co(III) PP IX DMECl AND KINETIC STUDY OF THE REACTION OF Co(III)PP IX DMECl WITH IMIDAZOLES

Bian Pingfeng Yan Weidong Liu Xianglan

(Department of Chemistry, Zhejiang University, Hangzhou 310027)

Protoporphyrin IX dimethyl ester complex of cobalt(Co(III)PP IX DMECl) was synthesized from protoporphyrin IX (PP IX) and characterized by elemental analysis, UV spectrum, IR spectrum and melting point respectively. The observed rate constants(k_{obs}) of the reactions of Co(III)PP IX DMECl with imidazoles (RIm) have been investigated in acetone and dichloromethane solvents at 298. 15K. Experiments show that the rate-determining step is chloride ionization from the mono(imidazole) intermediate. The rate law for the overall reaction is the first order in imidazole. The chloride ionization rate constant(k_1) strongly depends on the ability of solvent to form hydrogen-bonding, i. e. "distal-imidazole hydrogen bond effect". When a 2-methyl or 2-phenyl substituent is present, the steric strain with porphyrin ligand increases the rate of the trans chloride ionization, i. e. "proximal-strain effect".

Keywords: Co(III) PP IX DMECl imidazole synthesis kinetic study