

电化学及光谱电化学方法研究辅酶 B₁₂ 模型化合物的生成与解离. I

郑国栋* 孙浩然 高德** 曹锡章

(吉林大学化学系, 长春, 130023)

本文用电化学及光谱电化学方法研究了钴卟啉与苄基氯的相互作用, 表明形成有 σ 钴—碳键的辅酶 B₁₂ 模型化合物的前提条件是钴卟啉的中心钴氧化态必须降低到 I 价。讨论了 σ 钴—碳键的形成和解离与电位的关系, 现场检测到辅酶 B₁₂ 模型化合物的形成和解离的紫外可见光谱, 提出了钴卟啉与苄基氯的 BCE 作用机理。

关键词: 辅酶 B₁₂, 模型化合物, 光谱电化学。

辅酶 B₁₂ 是一种天然的有机金属化合物, 它在生物体的多种代谢过程中起着重要作用^[1]。为了弄清辅酶 B₁₂ 在生物体内的作用机制, 进行了大量的研究工作。已搞清辅酶 B₁₂ 的作用功能直接与钴—碳键有关, σ 钴—碳键的断裂与生成的循环过程中传递着电子, 起到了酶的辅因子作用^[2]。因此, 人们除了继续研究辅酶 B₁₂ 本身外, 还合成了大量模型化合物。国外在研究合成和性质上都取得了很大进展^[3-6], 而国内这方面的工作甚少。 σ 钴—碳键由于键能较低而稳定性较差, 尤其是在有氧条件下见光极易分解, 这就对研究合成和性质带来了困难。如何选择合成条件并保持 σ 钴—碳键稳定是合成模型化合物的重要课题。本文用电化学和光谱电化学方法研究了模型化合物的生成和解离过程, 以寻找稳定的模型化合物的合成条件。其中, 光谱电化学具有能够现场监测的优点, 使得不必分离所合成的产物就可直接进行性质研究。这一方法尤其适合于研究不稳定化合物。用该方法研究辅酶 B₁₂ 模型化合物的形成及解离过程尚未见文献报道。

实 验

试剂和仪器 钴四苯基卟啉由本实验室合成, 经硅胶柱层析纯化。四丁基高氯酸铵 (TBAP) 由四丁基溴化铵和高氯酸制备, 用丙酮和乙醚重结晶三次, 二甲亚砜 (DMSO) 使用前用活化的 5 A 分子筛干燥过夜, 然后加少量 CaH₂ 回馏 3h, 减压蒸馏, 收集中间馏分, 最后用 5 A 分子筛保存。苄基氯为分析纯, 使用前用 5 A 分子筛干燥。

UV-240 可见紫外光谱仪 (日本岛津), 伏安分析仪由 JSH-1 恒电位仪和 DCG-2 型多功能程序给定器组成 (吉林龙井电讯器材厂), TYPE 3086 函数记录仪 (四川仪表四厂), 工作电极为铂微球, 对电极为铂片, 参比电极为 Ag/Ag⁺ 电极 (乙腈 + 0.1 TBAP + 0.01 AgNO₃), 光程可调薄层光谱电化学池自制^[7]。

步骤 配制 $1.0 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ CoTPP + $0.1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ TBAP 的 DMSO 溶液用氩气

* 1991 年 1 月 21 日收到。修改稿于 1991 年 12 月 30 日收到。国家自然科学基金资助的项目。

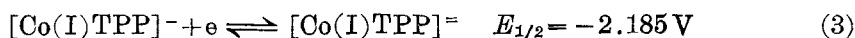
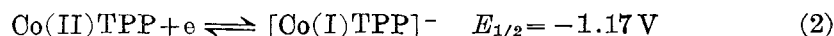
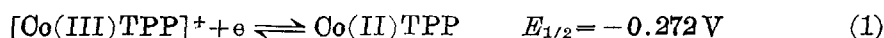
** 湖南大学化工系。

除氧, 以不同扫速做循环伏安, 以 1 mV/s 记录薄层循环伏安曲线(在光透薄层电化学池中进行), 用恒电位仪控制电位, 用紫外可见光谱现场检测置于光路中的光透薄层电化学池内钴卟啉光谱变化。

在上述溶液中加入不同浓度的卤代烷和选择不同的扫速记录循环伏安曲线, 用光谱电化学法现场检测模型化合物的生成和解离。实验温度 $20 \pm 2^\circ\text{C}$ 。

结果与讨论

图 1 是 CoTPP 在 DMSO 中的循环伏安曲线, 结果表现为三对可逆氧化还原反应, 它们分别归属于下列反应:



反应式(1)、(2)是中心钴的变价反应, 反应式(3)是卟啉环的电子得失, 这些结果与文献值基本一致^[8-10]。这些电极反应属于准可逆反应^[11]。

同样的溶液在薄层电极中以扫速为 1 mV/s 记录循环伏安曲线, 得到与图 1 基本类似的结果。不同的是反应式(1)和(2)的峰电位差很小, 约为 25 mV , 表现了薄层电极的耗竭性电解特征。在上述电极反应中, 反应式(2)的还原过程使 Co(II)TPP 的中心钴变为 I 价。此时的钴卟啉具有强亲核能力, 有亲电试剂时则可与 $[\text{Co(I)TPP}]^-$ 发生作用。若亲电试剂为苯基氯, 其作用结果产生含 σ 钴—碳键的辅酶 B₁₂ 模型化合物。

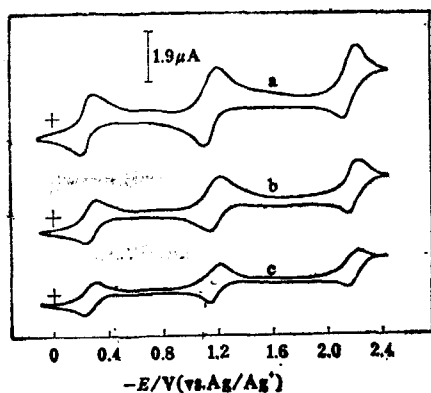


图 1 CoTPP 在 DMSO 溶液中的循环伏安图

$1.0 \times 10^{-3}\text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ CoTPP + $0.1\text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ TBAP, $1.0 \times 10^{-3}\text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ CoTPP + $1.0 \times 10^{-3}\text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ PhCH₂Cl + $0.1\text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ TBAP
a. $v=100\text{ mV/s}$; b. $v=50\text{ mV/s}$;
c. $v=25\text{ mV/s}$

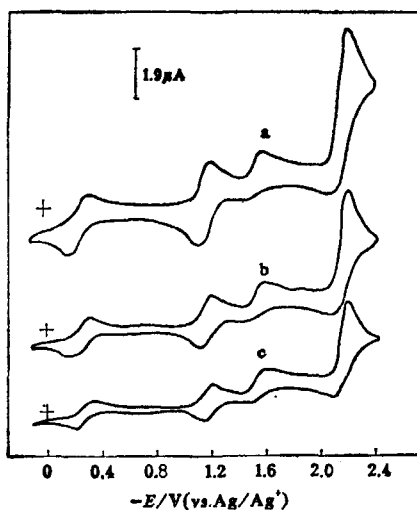
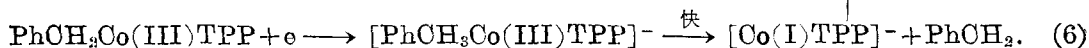
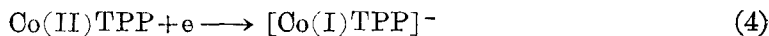


图 2 PhCH₂Cl 存在下的 CoTPP 的 DMSO 溶液循环伏安图

图 2 是在有亲电试剂 PhCH₂Cl 存在下, 不同扫速的循环伏安曲线。与图 1 比较, 在电位 -1.57 V 处多了一个还原峰。随着扫速的降低, 还原峰逐渐趋于阶梯形, 还原电流与反应式

(1)的还原电流之比呈上升趋势。同时反应式(2)的还原峰向阳极化移动,氧化峰逐步减少。在给定 PhCH_2Cl 浓度下,扫速减小,反应式(2)的可逆性变差(见图3)。如果增大 PhCH_2Cl 浓度,反应式(2)的可逆性在更高的扫速下便开始变差。这些结果表明反应式(2)之后伴随有不可逆的偶联化学反应^[12]。-1.57 V 的还原峰则是偶联化学反应产物的还原,其过程如下:



由于化学反应的速度低于电极反应速度^[13],所以扫速低时,电位从 -1.17 V 扫至 -1.57 V 时相对增长。化学反应产生的 $\text{PhCH}_2\text{Co(III)TPP}$ 量增加,使得 -1.57 V 处电流增大。在电位负于 -1.57 V 时,化学反应式(5)和电极反应式(6)同时进行,其结果是 PhCH_2Cl 不断消耗。钴卟啉起着传递电子的作用,担当着催化剂的角色。反应式(4)~(6)构成一个 ECE 催化过程,在伏安曲线上表现为 -1.57 V 之后形成一个电流平台,而不是一个电流峰。也正是因为化学反应的存在,在电位扫描至正于 -1.57 V 时,电极表面同时存在 $\text{PhCH}_2\text{Co(III)TPP}$ 和 $[\text{Co(I)TPP}]^-$,因此电位到 -1.17 V 时氧化峰变小。与负扫情况类似,正扫越慢,

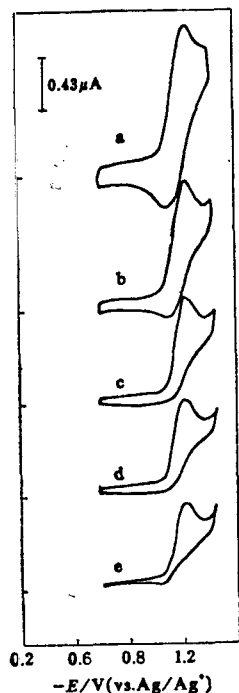


图3 PhCH_2Cl 存在下 CoTPP 的 DMSO 溶液循环伏安图

$1.0 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3} \text{ CoTPP} + 8.0 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3} \text{ PhCH}_2\text{Cl} + 0.1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3} \text{ TBAP}$
 a. $v = 500 \text{ mV/s}$; b. $v = 250 \text{ mV/s}$; c. $v = 100 \text{ mV/s}$;
 d. $v = 50 \text{ mV/s}$; e. $v = 25 \text{ mV/s}$

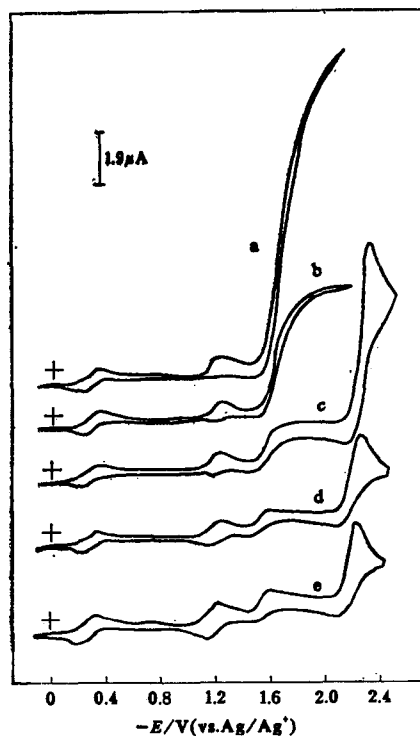
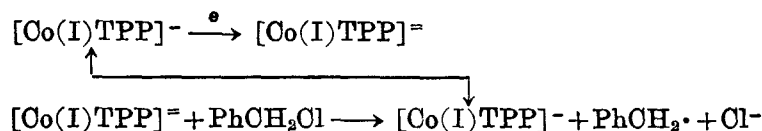


图4 CoTPP 在不同浓度 PhCH_2Cl 存在下的伏安图

$1.0 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3} \text{ CoTPP} + \text{PhCH}_2\text{Cl} + 0.1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3} \text{ TBAP}$
 a. $\text{CoTPP}:\text{PhCH}_2\text{Cl} = 1:100$; b. $\text{CoTPP}:\text{PhCH}_2\text{Cl} = 1:8$;
 c. $\text{CoTPP}:\text{PhCH}_2\text{Cl} = 1:4$; d. $\text{CoTPP}:\text{PhCH}_2\text{Cl} = 1:2$;
 e. $\text{CoTPP}:\text{PhCH}_2\text{Cl} = 1:1$; $v = 25 \text{ mV/s}$

$\text{PhCH}_2\text{Co(III)TPP}$ 的浓度越高, 氧化峰越小. 如果上述讨论正确, 提高 PhCH_2Cl 的浓度, 应该使 $\text{PhCH}_2\text{Co(III)TPP}$ 生成速度加快, 可使 -1.57 V 的还原平台增高, -1.17 V 的氧化峰降低. 图 4 是同扫速下改变 PhCH_2Cl 浓度记录的循环伏安曲线. 随着 PhCH_2Cl 浓度的增大, -1.57 V 的还原电流增大, -1.17 V 处的氧化峰降低, 表明 $\text{PhCH}_2\text{Co(III)TPP}$ 量增多了.

在有 PhCH_2Cl 存在时, 反应式(3)的还原电流明显增大, 可逆性变差, 这一结果可能与下列过程有关:



详细工作有待进一步进行.

上述所有实验现象与 Lexa 研究 BuBr 与 CoTPP 反应的结果基本一致^[14].

为了进一步地观察 $\text{PhCH}_2\text{Co(III)TPP}$ 的生成与解离, 用光透薄层电极(OTTLE)现场检测了紫外可见光谱的变化. 为了便于比较, 我们先给出了各价态 CoTPP 光谱, 根据循环伏安的结果选定电位 0.00 , -0.40 , -1.35 V , 分别获得 $[\text{Co(III)TPP}]^+$, Co(II)TPP 和 $[\text{Co(I)TPP}]^-$ 光谱, 见图 5. 当系统中同时存在 CoTPP 和 PhCH_2Cl , 控制电势 -1.35 V , 观察到了 $[\text{Co(I)TPP}]^-$ 与 PhCH_2Cl 的作用过程的光谱, 结果见图 6. 随着时间变化, 光谱中 416 nm 的 Soret 带逐步下降变宽, 并稍有红移. 365.0 nm 处先有上升趋势, 后又下降. Q 带从 530 nm 红移到 543.6 nm , 说明此过程为先生成 $[\text{Co(I)TPP}]^-$, 而后 $[\text{Co(I)TPP}]^-$ 作为亲电试剂进攻 PhCH_2Cl 生成 $\text{PhCH}_2\text{Co(III)TPP}$ 加合物, 最终光谱完全变为 $\text{PhCH}_2\text{Co(III)TPP}$ 的光谱. 通常模型化合物的中心钴表示为 III 价, 相当于三价钴卟啉与烷基负离子配位^[4, 15]. 比较图 5 与图 6, 加合物 Soret 带仅比 Co(II)TPP 稍有红移, 说明烷基负离子的电荷部分移向中心钴, 使中心钴的价态表现为接近 II 价.

通过对该系统的连续监测, 发现苄基钴卟啉是比较稳定的. 在 -1.3 — -1.45 V 基本不分解, 这与伏安法得到的结论一致. 这就为大量合成这些辅酶 B_{12} 模型化合物提供了实验条

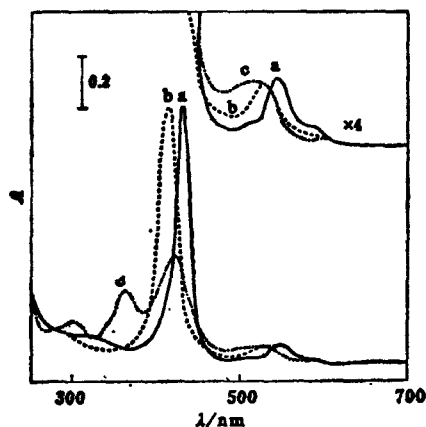


图 5 控制电势的 CoTPP 薄层紫外光谱图

$1.0 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3} \text{CoTPP}$
 $+ 0.1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3} \text{TBAP}$

a. Co(III)TPP^+ , 0.0 V ; b. Co(II)TPP , -0.40 V ;
 c. Co(I)TPP^- , -1.35 V [E/V (vs. Ag/Ag^+)]

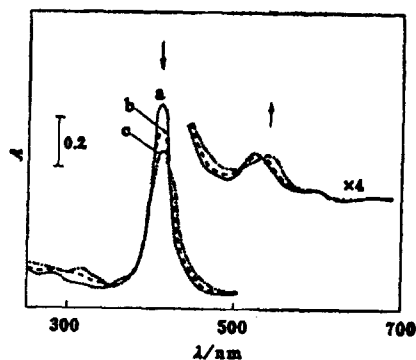


图 6 同时存在 CoTPP 和 PhCH_2Cl 的薄层光谱图

$1.0 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3} \text{CoTPP} + 1.0 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3} \text{PhCH}_2\text{Cl}$
 $+ 0.1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3} \text{TBAP}$

a. Co(II)TPP ; b. 变化中曲线, -1.35 V , 1.5 min ;
 c. $\text{PhCH}_2\text{Co(III)TPP}$, -1.35 V , 3.0 min

件. 当电势继续负移, 该加合物开始分解. 在电势为 -1.5 V 时分解较缓慢, 最终分解并不完全. 当电势负到 -1.70 V 时, 加合物迅速分解, 并到完全程度. 见图 7.

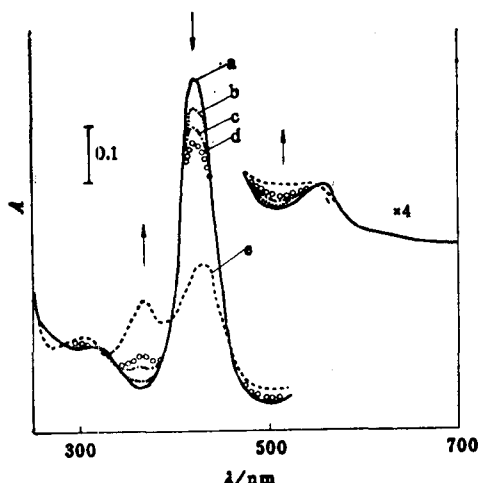


图 7 $\text{PhCH}_2\text{Co(III)TPP}$ 在 -1.50 V 时的分解过程光谱图

a. $\text{PhCH}_2\text{Co(III)TPP}$; b. 变化中曲线, $-1.3 \rightarrow -1.50\text{ V}$, 3 min; c. 变化中曲线 $-1.35 \rightarrow -1.50\text{ V}$, 8 min; d. 变化中曲线 $-1.35 \rightarrow -1.50\text{ V}$, 15 min; e. $[\text{Co(I)TPP}]^-$ $-1.50 \rightarrow -1.70\text{ V}$, 1 min

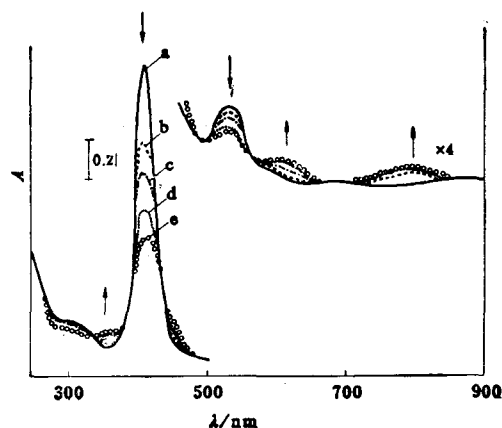
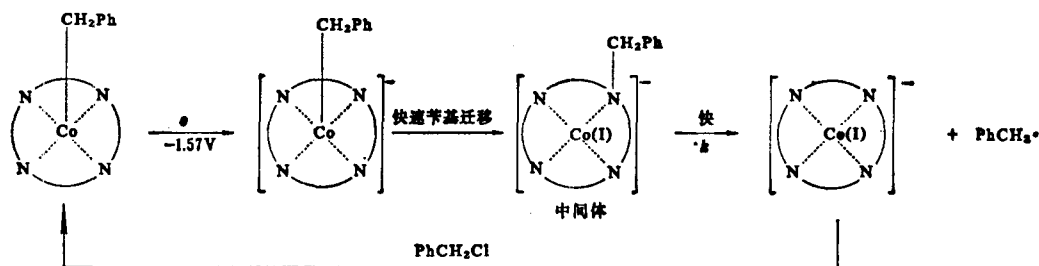


图 8 CoTPP 与大量 PhCH_2Cl 作用光谱图

a. $\text{PhCH}_2\text{Co(III)TPP}$ -1.35 V , 预置 3 min; b. 变化中曲线 -1.70 V , 2.5 min; c. 变化中曲线 -1.70 V , 5 min; d. 变化中曲线 -1.70 V , 7.5 min; e. 变化中曲线 -1.70 V , 10 min

实验中还加入了大量 PhCH_2Cl 进行研究. 电势置 -1.35 V 得到与图 6 同样的 $\text{PhCH}_2\text{Co(III)TPP}$ 光谱, 而当电势阶跃到 -1.700 V 时, 却观察到如图 8 所示的过程. 即在 620 nm 和 800 nm 处出现两个新的吸收峰, 说明中心金属钴的配位场的对称性发生了变化, 由原来的 O_{4v} 群变为 O_s 群. 这种对称性变化与生成下列中间体有关:



苄基的快速迁移使得苄基在卟啉环上的氮烷基化, 形成不对称结构的中间体, 在紫外可见光谱上出现新的吸收峰. 这一中间体不稳定, 会迅速解离产生苄基游离基和一价钴卟啉. 当苄基氯的浓度比较大时, 重新形成苄基钴的速度加快, 以至形成更多的中间体, 而达到一定数量的积累才被紫外-可见光谱观察到. 象上文中, 苄基氯的浓度较低时就观察不到这种不对称结构中间体的光谱. Lexa 等人^[14]在研究溴丁烷与 CoTPP 作用时, 观察到较为稳定的 N -烷基化钴卟啉, 说明烷基钴卟啉的解离都历经一个不对称的 N -烷基化钴卟啉中间体. N -丁烷卟啉比 N -苄基卟啉稳定的原因是由于苄基游离基比丁基游离基稳定, 因此 N -苄基钴卟啉更易解离出苄基游离基.

参 考 文 献

- [1] Abeles, R. H.; Dolphin, D., *Acc. Chem. Res.*, **1976**, *9*, 114.
- [2] Halpern, J., *Pure. Appl. Chem.*, **1986**, *58*, 575.
- [3] Marzilli, L. C.; Marzilli, P. A.; Halpern, J., *J. Am. Chem. Soc.*, **1971**, *93*, 1374.
- [4] Ogoshi, H.; Watanabe, E.; Koketsu, N.; Yoshida, Z., *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1976**, *49*, 2529.
- [5] Schrauzer, G. N.; Grate, J. H., *J. Am. Chem. Soc.*, **1981**, *103*, 541.
- [6] Halpern, J., *Science*, **1985**, *227*, 869.
- [7] 郑国栋, 孙浩然, 曹锡章, *分析化学*, **1991**, *12*, 1455.
- [8] Truxillo, L. A.; Davis, D. G., *Anal. Chem.*, **1975**, *47*, 2260.
- [9] Kadish, K. M.; Davis, D. G., *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **1973**, *206*, 495.
- [10] Felton, R. H.; Linschitz, H., *J. Am. Chem. Soc.*, **1966**, *88*, 1113.
- [11] Nicholson, R. S., *Anal. Chem.*, **1965**, *37*, 1351.
- [12] Anson, F. 讲授, 黄慰曾等编译, 高小霞, 杨文治校, *电化学和电分析化学*, 北京, 北京大学出版社, **1983**, p24.
- [13] 郑国栋, 孙浩然, 曹锡章, *高等学校化学学报*, **1992**, *4*, 421.
- [14] Lexa, D.; Saveant, J. M.; Soufflet, J. P., *J. Electroanal. Chem. Interfacial Electrochem.*, **1979**, *100*, 159.
- [15] Clarke, D. A.; Dolphin, D.; Grigg, R.; Johnson, A. W.; Pinnock, H. A., *J. Chem. Soc. (C)*, **1968**, 881.

Studies on the Production and Dissociation of Coenzyme B₁₂ Models by Electrochemistry and Spectroelectrochemistry. I.

Zheng, Guo-Dong* Sun, Hao-Ran Gao, De Cao, Xi-Zhang

(Department of Chemistry, Jilin University, Changchun, 130023)

Abstract

The reaction of CoTPP with PhCH₂Cl is studied by electrochemistry and spectroelectrochemistry. The results show that the essential condition for forming the σ cobalt-carbon bond-containing models is the central cobalt in cobalt-porphyrin reduced to lower valence (such as +1). The relation between the formation and dissociation of cobalt-carbon bond and electric potential is discussed in detail and the mechanism of reaction of CoTPP with PhCH₂Cl is also described.