

[TPPF_e(III)]₂O 的合成及其对细胞色素 P-450 的模拟

郭灿城*

(湖南师范大学化学系, 长沙, 410081)

朱申杰 桂明德

(南开大学化学系, 天津, 300071)

TPPF_e(III)Cl 通过中性 Al₂O₃ 色谱柱得到一个新化合物, 它在 HPLC 中的保留时间比 TPPFe(III)Cl 大得多, IR、UV-Vis 和元素分析表明, 这个新化合物是 [TPPF_e(III)]₂O。同 TPPFe(III)Cl 一样, 它具有在常温常压下催化碳氢化合物单氧化的性质。[TPPF_e(III)]₂O 催化下 PhIO 氧化环己烷的反应, 在 CH₂Cl₂ 和环己烷介质中, 氧化产率分别为 14.97 和 62.6%, 高于 TPPFe(III)Cl 作催化剂时的产率。在环己烷溶剂中, 反应产率与反应时间呈线性关系, 且反应有大约 3 小时诱导期。但在 CH₂Cl₂ 溶剂中不存在反应产物与时间的线性关系, 也不存在诱导期。与 TPPFe(III)Cl 比较, [TPPF_e(III)]₂O 对氧化剂更稳定。上述事实表明, [TPPF_e(III)]₂O 能够作为细胞色素 P-450 的模型化合物。

细胞色素 P-450 单氧酶是目前在生命体中唯一发现能使碳氢化合物官能团化的酶催化剂。多年来, 人们一直在致力于合成和寻找细胞色素 P-450 的模型化合物。1978 年, Groves 首次报道用合成的单核金属卟啉, 例如铁和锰的四苯基卟啉配合物, 在常温常压下催化 PhIO, NaClO, H₂O₂ 等氧化剂将烷烃和烯烃分别氧化成醇和环氧化合物^[1]。目前, 单核金属卟啉作为细胞色素 P-450 的模型化合物已为人们熟知, 用氧桥连接的双核高价金属卟啉, 例如锰的四价双核卟啉, 作催化剂使碳氢化合物官能团化, 近年也有报道^[2]。由于高价双核金属卟啉在低温下合成, 常温下不稳定, 因此这类化合物作为细胞色素 P-450 的模型化合物进行研究时, 有其局限性。

氧桥连接的三价双核金属卟啉, 稳定性与单核金属卟啉相同, 在常温常压下用这类化合物来催化烷烃羟基化反应, 还未见文献报道。我们采用将单核铁卟啉, 氯化四苯基卟吩合铁 TPPFe(III)Cl, 通过中性 Al₂O₃ 色谱柱的方法制备了三价双核铁卟啉, *μ*-氧代双四苯基卟吩合铁 [TPPF_e(III)]₂O, 并用它来催化 PhIO 氧化环己烷成环己醇的反应。研究发现, 用 [TPPF_e(III)]₂O 作催化剂, 在 CH₂Cl₂ 和环己烷溶剂中, 氧化产物产率分别为 15.0 和 62.6%, 均高于相应的单核金属卟啉 TPPFe(III)Cl。动力学分析表明, 在环己烷溶剂中, [TPPF_e(III)]₂O 催化的环己烷氧化反应, 反应产率与反应时间成线性关系, 同细胞色素 P-450 催化机理相一致。HPLC 跟踪反应过程中催化剂的变化, 发现 [TPPF_e(III)]₂O 对氧化剂的稳定性高于 TPPFe(III)Cl。

实 验

仪器与试剂 日本岛津 LC-4A 高效液相色谱仪; 日本岛津 UV-240 紫外-可见光谱仪; 日本岛津 GC-9A 气相色谱仪; 英国 PYE SP3-300 红外光谱仪; 美国 PE-240 元素分析仪。

1990 年 9 月 11 日收到。国家自然科学基金资助。本工作曾在 1990 年国际应用生物无机化学会议上报告。

ESR 由南开大学化学系测试中心代作。

本工作所用试剂,除特别说明外,均为市售分析纯试剂,未作进一步处理。

合成与反应

PhIO, TPPH₂, TPPFe(III)Cl 按文献[3—5]合成,产物经元素分析,红外和紫外光谱证实。

[TPPFe(III)]₂O 合成 在一根 $\phi 40 \times 450$ mm 的色谱柱中,用湿法填装 400 g 石油醚浸过的中性 Al₂O₃。将 150 mL 溶有 1 g TPPFe(III)Cl 的苯溶液通过色谱柱,用苯作淋洗液,流出液用旋转蒸发器浓缩至干。重复上述过程一次。用高效液相色谱检测流出液(工作条件见文献[6]),发现 TPPFe(III)Cl ($t_R = 2.8$ min) 已全部转化为 [TPPFe(III)]₂O ($t_R = 5.6$ min)。最终的流出液用旋转蒸发器浓缩。当沉淀开始析出时,加入 50 mL CH₃OH,抽滤,再用 CH₃OH 洗涤后,在空气中干燥,得 0.9 g 纯 [TPPFe(III)]₂O,产率 90%, C₃₃H₅₆N₃OFe₂ (计算值: C, 78.11; H, 4.17; N, 8.28。实测值: C, 78.09; H, 4.23; N, 8.05)。 λ_{max} (OH₂Cl₂): 412, 570, 610 nm。 ν_{max} : 870, 895(s, Fe-O-Fe)cm⁻¹。

HPLC 测定 Al₂O₃ 含水量对 [TPPFe(III)]₂O 合成的影响 在一个用循环水恒温 25°C 的反应器中,加入 10 g 中性 Al₂O₃ 和 25 mL 1.0 × 10⁻³ mol·L⁻¹ 的 TPPFe(III)Cl 苯溶液,分别加入不同量的水,电磁搅拌 2 h 后静置。取上层清液进行 HPLC 分析。TPPFe(III)Cl (A) 和 [TPPFe(III)]₂O (B) 的峰面积之比的变化见表 1。

表 1 [TPPFe(III)]₂O 含量随 Al₂O₃ 含水量的变化

H ₂ O(g)	0.1	0.2	0.3	0.5	0.7	1.0
B(%)	10.0	14.4	17.0	23.4	18.0	12.0

[TPPFe(III)]₂O 催化下环己烷的仿生氧化反应动力学测定 过程和方法见文献[7], GC 分析见文献[8]。反应体系组成: [TPPFe(III)]₂O 20 mg, PhIO 160 mg, 环己烷 5 mL。反应产物随时间的变化见表 2。

表 2 [TPPFe(III)]₂O 催化下环己醇(ROH)和环己酮(RO)的生成量随时间的变化

t (min)	CH ₂ Cl ₂		t (min)	环 己 烷	
	ROH × 10 ⁵ (mol)	RO × 10 ⁵ (mol)		ROH × 10 ⁵ (mol)	RO × 10 ⁵ (mol)
15	0.818	0	288	1.950	
38	1.239	0	327	2.733	
58	1.677	0	339	2.980	
72	2.033	0	396	5.740	0.669
122	2.236	0	438	7.550	1.350
148	2.456	0	480	9.192	1.920
172	2.618	0	495	10.087	2.100
195	2.786	0	555	12.720	3.130
			593	14.530	3.850

结果与讨论

[TPPFe(III)]₂O 的合成与鉴定 按文献 [9] 由 TPPFe(III)Cl 与 NaOH 反应合成 [TPPFe(III)]₂O, 反应混合物经 HPLC 分析发现有三个组分(见图 1a), 其中 t_R 5.64 min 的组分为 [TPPFe(III)]₂O, t_R 2.80 min 的组分为未反应完全的 TPPFe(III)Cl, t_R 3.49 min 的组分为自由四苯基卟吩 TPPH₂, 约占 10%。将 TPPFe(III)Cl 通过中性 Al₂O₃ 色谱柱后的流出液, HPLC 分析见图 1b, 产物的 IR 光谱无 380 cm⁻¹ ν_{Fe-Cl} 特征吸收, 但在 870 和 895 cm⁻¹ 有很强的 $\nu_{Fe-O-Fe}$ 特征峰, 元素分析与 [TPPFe(III)]₂O 组成相一致, 紫外-可见光谱与 [TPPFe(III)]₂O 的文献报道相同。用 TPPFe(III)Cl 通过 Al₂O₃ 色谱柱制备 [TPPFe(III)]₂O 的方法与文献方法相比, 步骤简单, 产物纯度高, 产率高。在合成 [TPPFe(III)]₂O 时, 不宜使用 CH₂Cl₂ 或 CHCl₃ 作溶剂, 因为 [TPPFe(III)]₂O 在含氯溶剂中, 即使在空气中放置, 也可以转回到反应物 TPPFe(III)Cl^[9]。



图 1 [TPPFe(III)]₂O 合成中反应液的 HPLC 分析

(a) 由 TPPFe(III)Cl 与 NaOH 反应; (b) 由 TPPFe(III)Cl 通过 Al₂O₃ 色谱柱。

[TPPFe(III)]₂O 的形成与 Al₂O₃ 表面吸附水的含量有关。从表 1 看出, 当 Al₂O₃ 含水量在 5% 时, [TPPFe(III)]₂O 含量最高。我们曾将市售中性 Al₂O₃ 在使用前于真空 150°C 下干燥 12 小时, 结果发现, [TPPFe(III)]₂O 含量只有 3%。但是, 如果 Al₂O₃ 表面吸附的水太多, 则将影响对 TPPFe(III)Cl 的吸附, 因而影响 [TPPFe(III)]₂O 的形成。

[TPPFe(III)]₂O 催化 PhIO 氧化环己烷的反应产率 常温常压下, 用 [TPPFe(III)]₂O 作催化剂, PhIO 可氧化环己烷成环己醇和环己酮。同 TPPFe(III)Cl 一样, 其结果都是使环己烷单充氧化。25°C, 101325 Pa (1 atm) 下, 用 [TPPFe(III)]₂O 催化 PhIO 氧化环己烷(反应物用量见实验部分), 结果见表 3。

表 3 [TPPFe(III)]₂O 催化下 PhIO 氧化环己烷的反应产率*

溶 剂	完成反应所需时间(h)	环己醇产率(%)	环己酮产率(%)
CH ₂ Cl ₂	10	14.97	0
环 己 烷	16	49.1	13.5

* 反应产率以投入的 PhIO 量计算; 反应完成时间指产物不再进一步增加的时间。

实验表明, 反应无论在 CH₂Cl₂ 介质还是在环己烷介质中进行, [TPPFe(III)]₂O 都能催化环己烷的羟基化反应, 但是溶剂对反应产率有明显影响。在环己烷溶剂中, 反应产率比在

CH₂Cl₂ 溶剂中要高得多。与此相反,完成反应的时间,在 CH₂Cl₂ 溶剂中要短得多。

[TPPF_e(III)]₂O 催化环己烷羟基化反应的动力学。[TPPF_e(III)]₂O 催化下, PhIO

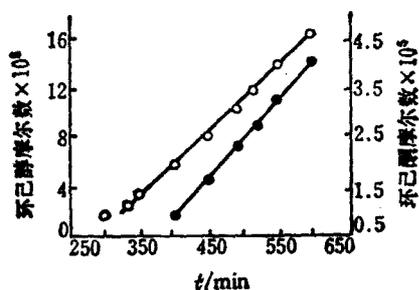


图2 [TPPF_e(III)]₂O 催化下,环己醇和环己酮与反应时间的线性关系
○—环己醇; ●—环己酮

氧化环己烷的反应产物及产率随时间的变化见表2。在 CH₂Cl₂ 溶剂中,反应产率与反应时间无简单动力学关系。但在环己烷溶剂中,用产物与反应时间作图,得到一条很好的直线,相关系数都大于 0.9950(图2),其关系式可表达如下:

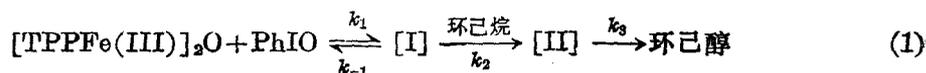
$$[\text{环己醇}] = 0.4415 \times 10^{-6}t + b$$

$$[\text{环己酮}] = 0.1522 \times 10^{-6}t + b'$$

上式表明,该反应在 25°C, 101325 Pa (1 atm) 下生成环己醇和环己酮的速率常数分别为 0.4415×10^{-6} mol/min 和 0.1522×10^{-6} mol/min。实验发现,在环己烷溶剂中, [TPPF_e(III)]₂O 有 3 小时的诱导期,而在

CH₂Cl₂ 溶剂中,反应经 15 分钟就可检测到环己醇的形成。

[TPPF_e(III)]₂O 催化下环己烷单氧氧化机理探讨 [TPPF_e(III)]₂O 与细胞色素 P-450 单氧酶催化碳氢化合物时行为相似,如果它们的催化过程一致的话,那么根据细胞色素 P-450 催化机理^[10], [TPPF_e(III)]₂O 催化 PhIO 氧化环己烷的反应则可简单地表示如下:



其中 [I] 为高价铁氧正离子自由基, [II] 为自由基提取中间体。根据上式,环己醇形成的反应速率可表示为:

$$\frac{d[\text{环己醇}]}{dt} = k_3[\text{II}] \quad (2)$$

由似稳态假设:

$$\frac{d[\text{I}]}{dt} = k_1[(\text{TPPF}_e(\text{III}))_2\text{O}][\text{PhIO}] - (k_{-1} + k_2[\text{环己烷}])[\text{I}] = 0 \quad (3)$$

$$\frac{d[\text{II}]}{dt} = k_2[\text{I}][\text{环己烷}] - k_3[\text{II}] = 0 \quad (4)$$

由(3)和(4)得:

$$[\text{II}] = \frac{k_1 k_2 \cdot [\text{PhIO}][\text{环己烷}][(\text{TPPF}_e(\text{III}))_2\text{O}]}{k_{-1} + k_2[\text{环己烷}]} \quad (5)$$

(5)代入(2)得:

$$\frac{d[\text{环己醇}]}{dt} = \frac{k_1 k_2}{k_{-1} + k_2[\text{环己烷}]} [\text{PhIO}][\text{环己烷}][(\text{TPPF}_e(\text{III}))_2\text{O}] \quad (6)$$

在本文报道条件下,环己烷过量数千倍,PhIO 由不断搅拌溶解得以补充,如果 [TPPF_e(III)]₂O 在反应过程中维持浓度不变,则式(6)可简写为:

$$\frac{d[\text{环己醇}]}{dt} = K, \quad [\text{环己醇}] = Kt + b \quad (7)$$

产物环己醇的生成量与反应时间呈线性关系。在环己烷作溶剂的反应体系中,实验结果与理论推导一致,说明 [TPPF_e(III)]₂O 催化下的烷烃羟基化与细胞色素 P-450 酶催化反应有相类似的机理。

在 CH_2Cl_2 溶剂中, $[\text{TPPF}_e(\text{III})]_2\text{O}$ 发生一系列变化, HPLC 检测得到的 $[\text{TPPF}_e(\text{III})]_2\text{O}$ 变化曲线见图 3. 在氧化剂的作用下, $[\text{TPPF}_e(\text{III})]_2\text{O}$ 与 CH_2Cl_2 作用转变为 $\text{TPPF}_e(\text{III})\text{Cl}^{[9]}$, 并且 $\text{TPPF}_e(\text{III})\text{Cl}$ 也有一个由增加到减少的过程. 因此在 CH_2Cl_2 溶剂中进行的反应, 单核金属卟啉也是催化物种之一. 由于催化剂物种和催化剂量的不断变化, 因此在 CH_2Cl_2 溶剂中产物环己醇与反应时间不在线性关系.

$[\text{TPPF}_e(\text{III})]_2\text{O}$ 与 $\text{TPPF}_e(\text{III})\text{Cl}$ 催化性能比较 $[\text{TPPF}_e(\text{III})]_2\text{O}$ 和 $\text{TPPF}_e(\text{III})\text{Cl}$ 都能催化环己烷羟基化反应, 并且产物也都相同, 但它们的催化性能有明显区别. 现以环己烷溶剂体系为例来分析它们的催化性能(表 4). 同 $\text{TPPF}_e(\text{III})\text{Cl}$ 比较, 用 $[\text{TPPF}_e(\text{III})]_2\text{O}$ 作催化剂, 产率较高, 但反应速率明显较小. 另外 $\text{TPPF}_e(\text{III})\text{Cl}$ 催化时反应无诱导期, 而 $[\text{TPPF}_e(\text{III})]_2\text{O}$ 催化时反应有 3 小时诱导期. 最近的研究^[11]表明, $\text{TPPF}_e(\text{III})\text{Cl}$ 对氧化剂的稳定性比 $[\text{TPPF}_e(\text{III})]_2\text{O}$ 要差一些.

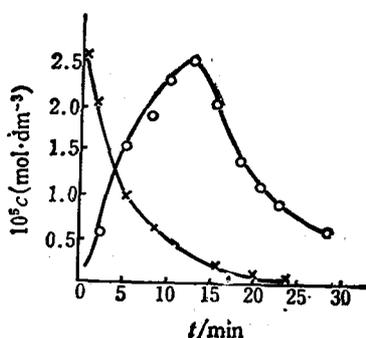


图 3 在 CH_2Cl_2 中, HPLC 检测得到的 $[\text{TPPF}_e(\text{III})]_2\text{O}$ 变化曲线
 ×— $[\text{TPPF}_e(\text{III})]_2\text{O}$; ○— $\text{TPPF}_e(\text{III})\text{Cl}$

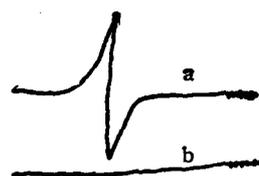


图 4 25°C 下 $\text{TPPF}_e(\text{III})\text{Cl}$ (a) 和 $[\text{TPPF}_e(\text{III})]_2\text{O}$ (b) 的 ESR

表 4 不同铁卟啉催化下环己烷羟基化反应比较

催 化 剂	$\text{TPPF}_e(\text{III})\text{Cl}$	$[\text{TPPF}_e(\text{III})]_2\text{O}$
氧化产率(%)	43.87	62.6
反应时间(h)	8	16
$k_{\text{cat}} \times 10^6 (\text{mol}/\text{min})$	1.65	0.4415
诱导期(h)	0	3
文献	[9]	本工作

为了探讨 $\text{TPPF}_e(\text{III})\text{Cl}$ 和 $[\text{TPPF}_e(\text{III})]_2\text{O}$ 催化性能的差异, 我们测试了 $\text{TPPF}_e(\text{III})\text{Cl}$ 和 $[\text{TPPF}_e(\text{III})]_2\text{O}$ 的 ESR. 在室温下, 它们的 ESR 见图 4. $\text{TPPF}_e(\text{III})\text{Cl}$ 表现为强的顺磁化合物特征, 而 $[\text{TPPF}_e(\text{III})]_2\text{O}$ 为反磁化合物特征. 这两种铁卟啉的 ESR 特征以及反应诱导期的区别正好与细胞色素 P-450 催化过程中低自旋铁向高自旋铁转化的事实相一致. 我们曾试图用 ESR 测定 $[\text{TPPF}_e(\text{III})]_2\text{O}$ 在催化过程中可能存在的自旋态改变, 由于 $[\text{TPPF}_e(\text{III})]_2\text{O}$ 在环己烷体系中的溶解度太小, 未获成功. 但是我们发现, 在液氮温度下, $[\text{TPPF}_e(\text{III})]_2\text{O}$ 转变为顺磁化合物, 这表明, $[\text{TPPF}_e(\text{III})]_2\text{O}$ 可以发生自旋态的改变. 根据 ESR 分析结果, 我们认为, 室温下 $\text{TPPF}_e(\text{III})\text{Cl}$ 与 $[\text{TPPF}_e(\text{III})]_2\text{O}$ 在催化性能方面的差异, 可能与它们具有不同的电子自旋状态有关. 关于这一点, 我们将作进一步的研究.

参 考 文 献

- [1] Groves, J. T.; Nemo, T. E.; Myers, R. S., *J. Am. Chem. Soc.*, **1978**, *104*, 1032.
 [2] Smegal, J. A.; Hill, C. L., *J. Am. Chem. Soc.*, **1983**, *105*, 3515
 [3] Lucas, H. J.; Kennedy, E. R.; Johnson, J. R.; Formo, M. W., "Organic Synthesis" Coll. Vol. 3, New York, John Wiley and Sons, Inc., **1955**, p. 482.
 [4] 郭灿城, 何兴涛, 邹纲要, 有机化学, **1991**, *11*, 416.
 [5] 郭灿城, 朱申杰, 桂明德, 化学试剂, **1990**, *12*(5)270.
 [6] 朱申杰, 桂明德, 郭灿城, 高等学校化学学报, **1989**, *10*, 1100.
 [7] 朱申杰, 桂明德, 郭灿城, *Chem. J. Chinese Univ. (Eng)*, **1989**, *5*(4), 293.
 [8] 朱申杰, 桂明德, 郭灿城, *Chem. J. Chinese Univ. (Eng)*, **1989**, *5*(1), 108
 [9] Fleischer, E. B.; Srivastava, T. S., *J. Am. Chem. Soc.*, **1969**, *91*, 2403.
 [10] Guengerich, F. P.; Macdonald, T. L., *Acc. Chem. Res.*, **1984**, *17*, 9.
 [11] 郭灿城, 刘晓宇, 杨明生, 朱申杰, 桂明德, 高等学校化学学报, 待发表.

Synthesis of [TPPFe(III)]₂O and Imitation on Cytochrome P-450 Mono-oxygenase

Guo, Can-Cheng*

(Department of Chemistry, Hunan Normal University, Changsha, 410081)

Zhu, Shen-Jie Gui, Ming-De

(Department of Chemistry, Nankai University, Tianjin, 300071)

Abstract

u-Oxo bis[tetraphenylporphinatoiron(III)], [TPPFe(III)]₂O, was synthesized by passing chloro[tetraphenylporphinatoiron(III)], TPPFe(III)Cl, through a neutral Al₂O₃ chromatographic column, and was characterized by HPLC, IR, UV-Vis and elemental analysis. Just as TPPFe(III)Cl, it has the properties of catalyzing the oxidation reaction of cyclohexane with PhIO under room temperature and atmosphere. In the oxidation reaction of cyclohexane, the yields of the oxidation products in CH₂Cl₂ and cyclohexane medium were 14.97% and 62.6%, respectively. In cyclohexane solvent, the quantities of products linearly correlated with the reaction time, and the reaction existed an induction period of about 3 hours, but both this linear correlation and induction period were absent in CH₂Cl₂. Compared with TPPFe(III)Cl, [TPPFe(III)]₂O was more stable because it was difficult to be oxidized by oxidants. Above facts showed that [TPPFe(III)]₂O could be used as a model compound of cytochrome P-450 monooxygenase.