

叶绿素 a 钴 (II) 烟酰胺的合成*

陈特强 杨满芽 陶 军

(中山大学化学与化学工程学院, 广州 510275)

摘 要 脱镁叶绿甲酯一酸 a 和醋酸钴合成钴 (II) 脱镁叶绿甲酯一酸 a, 用色谱法分离纯化. 钴 (II) 脱镁叶绿甲酯一酸 a 与烟酰胺反应, 合成了一种新的水溶性配合物 [Co(II) (脱镁叶绿甲酯一酸 a) (烟酰胺) (H₂O)], 并研究了各步产物的元素分析, 可见紫外光谱和傅里叶红外光谱.

关键词 叶绿素, 脱镁叶绿甲酯一酸 a, 脱镁叶绿素 a 钴 (II), 脱镁叶绿素 a 钴 (II) 烟酰胺
分类号 O 614. 812

目前过渡金属叶绿素衍生物在医药上的应用研究日益受人瞩目^[1]. 叶绿素降解产物脱镁叶绿甲酯一酸 a 对人体癌细胞的光动力学杀伤能力远较血卟啉光敏剂为强, 但其毒性较大, 若配位顺磁性金属离子如 Fe³⁺, Co³⁺ 等可抑制卟啉类光敏性, 减少光动力损伤^[2]. 对金属叶绿素轴上配体的络合物研究已经引起重视, 合成了磷铁 (III) 叶绿素 a^[3] 和叶绿素 a 钴 (II) 维生素 B^[4]. 本文合成了一种新的水溶性脱镁叶绿甲酯一酸 a 钴 (II) 烟酰胺 (2) (其中烟酰胺为轴上配体). 钴参与人体和动物体中多种酶的合成, 烟酰胺是辅酶 I, II 的组成部分. 因而 2 可能将成为有独特诊断和治疗作用的药物.

1 实验部分

1.1 仪器和试剂 所有试剂均为 AR. 层析柱 ϕ 3 cm \times 30 cm (自制); 薄层层析板 2.5 cm \times 6 cm (香港), 20 cm \times 25 cm (自制); Nicolet 205 FT-IR 红外分光光度计; 日本岛津 UV-240 紫外分光光度计; 日本岛津 RF 5000 荧光光度计; 美国 PE 240C 型元素分析仪; ZAB-HS 质谱仪.

1.2 脱镁叶绿甲酯一酸 a 的制备 按文献 [5] 方法, 以盐酸 (*w* 为 30%) 乙醚两相分离法, 在叶绿素 a, b 混合物中, 让叶绿素 a 转化成脱镁叶绿甲酯一酸 a 进入盐酸溶液, 叶绿素 b 转化成脱镁叶绿素 b 留在乙醚层中. 二者先行粗分, 继而将含脱镁叶绿甲酯一酸 a 和少量脱镁叶绿素 b 的盐酸溶液用氨水中和至 pH 6~7, 以低温 (0 $^{\circ}$ C) 乙醚萃取脱镁叶绿甲酯一酸 a, 盐酸 (*w* 为 16%) 反萃取除去脱镁叶绿素 b. 乙醚萃取液用蒸馏水洗涤 2~3 次后用无水 Na₂SO₄ 干燥, 再用硅胶 G (100~140 目) 拌样过柱, 将适当比例石油醚和丙酮作洗脱剂, 接取第二组分, 放置 36 h, 析出亮黑色片状物质, 将黑色物溶于少量氯仿, 用 2.5 cm \times 6 cm 薄板, 以适当比例苯和丙酮为展开剂进行 TLC 分离, 截取 R_f = 0.48 色带的硅胶 H 浸泡于 30 mL 甲醇溶液中 10 h, 过滤, 将甲醇溶液真空干燥得亮黑色粉末. 经元素和 MS 分析, 确定脱

* 收稿日期: 1998-03-05 陈特强, 男, 59 岁, 副教授

镁叶绿甲酯一酸 a 的分子式为 $C_{35}H_{66}O_5N_4$. 组成分析 ($w\%$, 括号里为计算值): C 70.08 (70.93); H 6.65 (6.12); N 9.12 (9.45). 荧光光谱 (THF) λ_{max} : 677 nm. 可见紫外光谱 (THF) λ_{max}/nm : 277.3, 321.3, 410.5, 474.3, 506.5, 535.7, 560.9, 609.9, 667.7. 文献值 (THF) λ_{max}/nm : 275, 322, 411, 471, 506, 535, 558, 609, 668. 红外光谱 ν_{max}^{KBr}/cm^{-1} : 2957.9, 2927.3, 2868, 1737.3, 1699.5, 1622.2, 1163.7, 1099.5, 1035, 989.69, 750, 672 m/z 593 (M^+), 534 ($M^+ - COOCH_3$), 459 [$M^+ - (COOCH_3 + H(CH_2)_2COOH - H)$], 231 ($M^+ - C_{20}H_{44}N_2O_5$). 以上数据与文献 [5] 报道基本一致.

1.3 脱镁叶绿甲酯一酸 a 钴(II) (1) 的合成 称取 25 mg ($\sim 5 \times 10^{-5}$ mol) $C_{35}H_{66}O_5N_4$ 溶于 16 mL 的 $CHCl_3$, 加入 $\sim 5 \times 10^{-4}$ mol $Co(CH_3COO)_2 \cdot 4H_2O$ 的 10 mL 甲醇溶液, N_2 气氛保护, $70^\circ C$ 搅拌回流反应 2 h, 反应产物加水稀释后用乙醚萃取, 乙醚萃取液用无水 Na_2SO_4 干燥, 用 ϕ 2 cm \times 7 cm 色谱柱过柱 (硅胶 H), 用适当比例石油醚和丙酮作洗脱剂, 接取第二绿色组分, 真空干燥, 得暗绿色粉末状物质.

1.4 2 的合成 称取 30 mg ($\sim 5 \times 10^{-5}$ mol) 1 和 60 mg ($\sim 5 \times 10^{-4}$ mol) 烟酰胺溶于 30 mL CH_3OH 中, $60^\circ C$, N_2 气氛保护, 搅拌反应 1 h, 反应产物加入 10 g 硅胶 G, 搅拌, 真空干燥, 用丙酮反复浸泡干燥物, 除去未反应烟酰胺, 直至丙酮溶液经 TLC 测知没有烟酰胺为止, 过滤, 在经过丙酮浸泡过的硅胶中, 加入 30 mL 甲醇和 1-2 滴冰醋酸浸泡 24 h, 过滤, 将甲醇溶液真空干燥, 得翠绿色粉末.

2 结果与讨论

2.1 溶解性 1 可溶于乙醚不溶于水, 而 1 与烟酰胺反应, 其混合物加水后不能用乙醚萃取产物, 说明 2 具有与烟酰胺相似的水溶性能.

2.2 元素分析 将制得的 1 进行 C, H, N 分析, Co 采用比色法分析; 分子式为 $C_{35}H_{68}O_7N_4Co$, 结果 ($w\%$, 括号里为计算值): C 61.19 (61.31), H 5.62 (5.59), N 8.09 (8.17), Co 8.31 (8.59). 证明合成产物为 Co(II) (脱镁叶绿甲酯一酸 a) ($2H_2O$).

同样对 2 进行元素分析, 分子式为 $C_{41}H_{82}O_7N_6Co$, 分析结果为 ($w\%$, 括号里为计算值): C 63.13 (62.35), H 5.20 (5.36), N 10.25 (10.65), Co 7.35 (7.46). 可确定 2 组成为 Co(II) (脱镁叶绿甲酯一酸 a) (烟酰胺) (H_2O), 它的可能分子结构式如图 1 所示.

2.3 可见紫外电子光谱 测量了 1 和 2 在室温下的可见紫外电子光谱 (图 2). 由图 2 可见, 脱镁叶绿甲酯一酸 a 有 9 个特征峰 (图 2I 曲线), 当钴离子同配体反应后减少为 5 个吸收峰 (图 2II 曲线) 其 λ_{max}/nm 分别为 643.5, 493.5, 422.3, 397.3, 278.1. 同时紫外吸收峰发生了红移, III 曲线与 I 曲线的对比相似于 II 曲线与 I 曲线的对比. 这是因为配合物形成后增加了对称性而使吸收峰减少的缘故 [6].

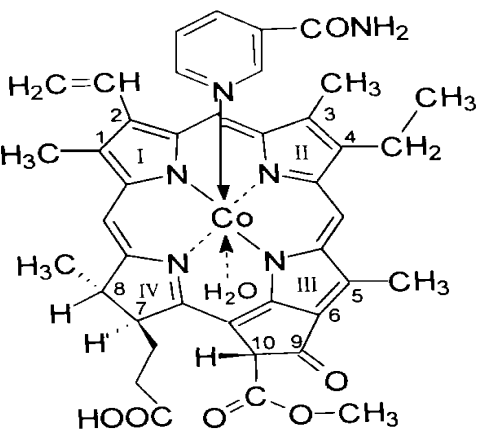


图 1 2 分子结构式

Fig. 1 The structure of 2

图 2II, IV 曲线分别是在相同条件下烟酰胺和 2 的可见紫外曲线, 可以看出 2 的 Soret 带和 Q 带发生了红移, 与文献 [3] 结果相似, 说明烟酰胺与 1 发生轴上配位反应. 根据文献 [7] 对 Soret 带和 Q 带的量子化学计算结果确定钴(II) 与烟酰胺吡啶环上的 N 原子配位.

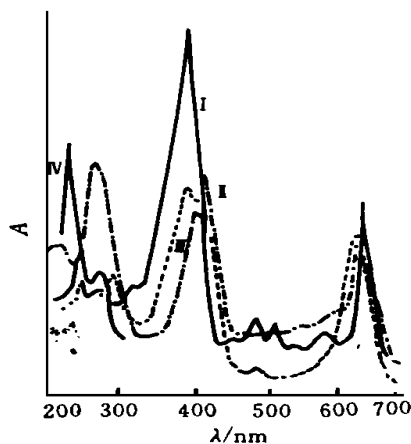


图 2 可见紫外电子光谱

Fig. 2 UV-Vis spectra

I 脱镁叶绿甲酯一酸 a; II 1; III 2 IV 烟酰胺

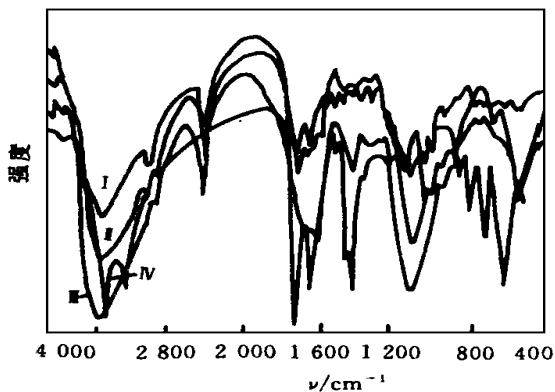


图 3 红外光谱图

Fig. 3 FT-IR spectra

2.4 红外光谱 采用 KBr 压片法对 1 进行 FT-IR 谱研究 (图 3). $2868, 2927 \text{ cm}^{-1}, 2957 \text{ cm}^{-1}$ 与卟啉环上脂肪取代基的 C—H 伸缩模型类似^[8], 在叶绿素 a 中, 它受到植醇基的 C—H 伸缩振动的干扰, 但图 3 的 IR 谱线中没有出现与植醇基有关的吸收峰^[9], 说明配位体已脱去了植醇基 (叶绿基).

脱镁叶绿甲酯一酸 a 的二氢卟吩环伸缩振动 $\nu(\text{C}=\text{C})$ 为 1622.2 cm^{-1} , 形成 1 后移至 1647.1 cm^{-1} , 说明钴配位后直接影响了共轭环上的电荷分布. $750, 672 \text{ cm}^{-1}$ 是 N—H 摇摆吸收. 脱镁叶绿素中的亚胺的 N—H 伸缩频率在 3400 cm^{-1} 附近, 但对卟啉环化合物来说, 这个吸收极弱, 被强的 OH 吸收峰所掩盖, IR 曲线的 3426 cm^{-1} 则是水的 O—H 伸缩振动. 共轭环的 $750, 672 \text{ cm}^{-1}$ 骨架振动, 在钴离子配位后消失说明钴离子进入卟啉环.

脱镁叶绿甲酯一酸 a 的 C7 及 C10 的酯基吸收峰当形成配合物后由 1737.3 移向 1739.5 cm^{-1} , 几乎不变. 这是由于它远离共轭大环, 不直接参与配位, 不受钴离子配位的影响. C9 位羰基的 C—Co—键角是 107° ^[10] 与一般酮基的键角相差甚大, 由位阻效应引起的羰基键角改变可以降低 $\nu(\text{C}=\text{O})$ 之故.

1 的 IR (图 3b 曲线) 有一个吸收峰 532 cm^{-1} , 它是 $\nu(\text{Co}-\text{N})$, 在 2 的 IR (图 3c 曲线) 吸收峰 532 cm^{-1} 消失而出现 538 cm^{-1} , 说明烟酰胺与 1 产生配位效应. 同时烟酰胺 IR (图 3V 曲线) 中的 $1680.4, 1619.7 \text{ cm}^{-1}$ 为酰胺基的特征峰. 形成配合物后表现为 $1630.1, 1579.2 \text{ cm}^{-1}$, 与文献 [11] 报导的配合物相似.

综上所述, 烟酰胺通过吡啶环上 N 原子与 1 的钴离子络合物形成配合物.

参 考 文 献

- 1 Li S, Inoue H. Preparation determination of manganese (III) chlorophylls by reversed-phase high performance liquid chromatography. *Chromatographia*, 1992, 33 (11-12): 567
- 2 许德余. 肿瘤光化学诊治蕉物研究的进展. *医药工业*, 1987, 18 (1): 31-36
- 3 Inoue H, Akahori H, Ohno Y, et al. Axial coordination of phosphine or phosphite to iron (III) chlorophylla, *Z naturforsch B. Chem Sci*, 1995, 50 (8): 1222
- 4 武见太郎, 井越道晴, 近藤和子, 等. Thiamin cobaltchlorophyllin complex. *Jpn Kokai Tokkyo Koho JP*, 82 62, 281, 年份
- 5 Hynninen P H, Lotjonen S. Preparation of phorbins derivatives from chlorophyll mixture utilizing the principle of selective hydrolysis. *Synthesis*, 1980, 46 (7): 539
- 6 Dolphin D. *The porphyrins*. 1978
- 7 El-Shahawy A S, Girgis M M, Ismah M T. Nicotinic acid and nicotinamide electronic structural studies. *Spectrochim Acta (A)*, 1987, 43 (11): 1371
- 8 Gerald O, Suse B B, Judith S B. Spectral properties of chlorophyllin a. *J Am Chem Soc*, 1964, 86 1309
- 9 Weigl J W, Livingston R. Infrared spectra of chlorophyll and related compounds. *J Am Chem Soc*, 1953, 75 2173
- 10 Chow H C, Serlin R, Strouse C E. The crystal and molecular structure and absolute configuration of ethyl chlorophyllide a dihydrate. *J Am Chem Soc*, 1975, 97 7230-7237
- 11 Adegboye O A, Gabriel A K, Edet F A. Magnetic and spectral properties of some cobalt (II) complexes of vitamin B₁. *Inorg Chim Acta*, 1989, 165 155

Synthesis of Cobalt (II) Chlorophyll-a-Nicotinamide Coordination Compound

Chen Teqiang Yang Many Tao Jun*

Abstract A new water-soluble Co(II) coordination compound of pheophorbide-a and nicotinamide was prepared, elementary analysis UV-vis absorption spectra and FT-IR spectra were used to verify the formula of the novel complex as [Co(pheophorbide-a)(nicotinamide)(H₂O)].

Keywords chlorophylls, pheophorbide-a, cobalt (II)-pheophorbide-a, cobalt (II)-pheophorbide-a-nicotinamide

* School of Chemistry and Chemical Engineering, Zhongshan University, Guangzhou 510275, China