

甲烷单加氧酶模型化合物的合成及性能测试

李宏洋 施 锋 彭孝军 孙立成 张丽珠 陈小强

(大连理工大学精细化工国家重点实验室, 辽宁 大连 116012)

摘要:设计、合成了一个新的甲烷单加氧酶(MMO)模型化合物 $[\text{Fe}_2(\text{III}, \text{III})\text{L}(\mu\text{-OAc})_2]\cdot\text{PF}_6$, 其中 L 为 2,6-二{[(2-羟基-5-叔丁基-苄基)(吡啶-2-甲基)-氨基]-甲基}-4-甲基苯酚。与以往的模型体系 $[\text{Fe}_2(\text{II}, \text{III})(\text{bpmp})(\mu\text{-OAc})_2]\cdot(\text{BPh}_4)_2$ 相比, 新模型增加了 2 个酚配体、2 个叔丁基。这些基团的引入提高了中心金属 Fe 的价态, 并增加了配体的电子云密度从而调节了 Fe 的氧化还原电位。该模型进一步缩小了人工模型体系与甲烷单加氧活性中心(MMOH)的差异。通过红外(IR)、电喷雾电离质谱(ESI-MS)、核磁共振 NMR(gCOSY、gHMBC、gHSQC)及电化学对新配体及络合物进行了表征和测试。

关键词:双核铁络合物; 甲烷单加氧(MMO); 含酚配体

中图分类号: O641.4

文献标识码: A

文章编号: 0253-4320(2004)01-0038-03

Synthesis and characterization of a novel high valent dinuclear Fe(III, III) complex of triphenolate ligand $[\text{N}_4\text{O}_3]^{3-}$ as a model for methane monooxygenase

Li Hong-yang, Shi Feng, Peng Xiao-jun, Sun Li-cheng, Zhang Li-zhu, Chen Xiao-qiang

(State Key Laboratory of Fine Chemicals, Dalian University of Technology, Dalian 116012, China)

Abstract: A new high valent $[\text{Fe}_2(\text{III}/\text{III})\text{L}(\mu\text{-OAc})_2]\cdot\text{PF}_6$ complex was prepared, where L was 2,6-Bis((2-hydroxy-5-tert-butyl-benzyl)(pyridyl-2-methyl)amino)methyl)-4-methylphenol, which contained another two phenolate and tert-butyl functional groups compared to $[\text{Fe}_2(\text{II}, \text{III})(\text{bpmp})(\mu\text{-OAc})_2]\cdot(\text{BPh}_4)_2$. In this complex, two pseudo-octahedrally coordinated Fe ions were bridged by a phenolate group and two bidentate acetate ligands. The stronger and more coordinate bonds between anionic phenolate groups and Fe ions in higher oxidation state prevented the dissociation of central ions. The additional tert-butyl groups improved the solubility and electronic cloud density of the ligand. These improvements narrowed the disparity between the new model and the MMOH. And IR, ESI-MS, NMR (gCOSY, gHMBC, gHSQC) and electrochemistry characterized the new ligand or complex.

Key words: dinuclear iron complex; methane monooxygenase (MMO); phenolate ligand

现代工业中通过氧化可提高烷烃等底物的产品附加值, 但这一过程同时伴随着高温高压的苛刻反应条件、较低的产品选择性和大量的副产排放。因此寻求一条反应条件温和、活性高、选择性高的氧化工艺成为重要课题, 自然界中的甲烷单加氧酶(MMO)可以在温和的条件下高效地将底物氧化^[1], 为人们提供了一个很好的例证。在 MMO 的结构和功能模拟研究中, 曾采用 $[\text{Fe}_2(\text{II}, \text{III})(\text{bpmp})(\mu\text{-OAc})_2]\cdot(\text{BPh}_4)_2$ (Hbpmp 为 2,6-二{[N,N-二(吡啶-2-甲基)-氨基]-甲基}-4-甲基苯酚)(见图 1)来模拟单加氧过程中负责氧气活化和底物羟基化的 MMOH(双核铁络合物), 它有效模拟了谷氨酸和组氨酸同铁之间的相互作用^[2], 但该模型尚需改进。

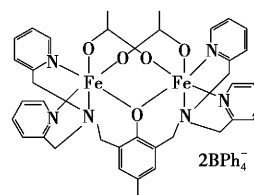


图 1 $[\text{Fe}_2(\text{II}, \text{III})(\text{bpmp})(\mu\text{-OAc})_2]\cdot(\text{BPh}_4)_2$

虽然 MMO 氧化底物的确切机理还不清楚, 但现已发现 Fe(III)或更高价态将有利于提高 MMO 的氧化能力^[3]。考虑到高价铁在催化氧化过程中的重要性, 笔者在原有模型基础上设计了一个高价双核铁络合物: $[\text{Fe}_2(\text{III}, \text{III})\text{L}(\mu\text{-OAc})_2]\cdot\text{PF}_6$ (化合物 1), 其中 L 为 2,6-二{[(2-羟基-5-叔丁基-苄基)

收稿日期: 2003-10-13

基金项目: 国家自然科学基金和国家重点基础研究专项经费(批准号: 20128005)资助

作者简介: 李宏洋(1974-), 男, 博士生; 彭孝军(1962-), 男, 教授, 博导, 主要从事超分子化学和荧光分子探针方面的研究, 通讯联系人, 0411-3673467, pengxj@chem.dlut.edu.cn; 孙立成(1962-), 男, 教授, 博导, 主要从事人工光合作用和超分子化学的研究。

(吡啶-2-甲基)-氨基]-甲基]-4-甲基苯酚。与 $[\text{Fe}_2(\text{II, III})(\text{bpmp})(\mu\text{-OAc})_2] \cdot (\text{BPh}_4)_2$ 相比,新模型除保持了 Hbpmp 的优势外,其酚羟基中的氧负离子代替吡啶环中的氮原子参与了中心金属的配位,从而提高了铁的氧化价态,同时增加了络合物的稳定性。作为电子给体,苯酚上叔丁基的引入增加了配体的电子云密度,并通过共轭效应提高了氧原子的配位能力;而在反应过程中它又起到“电子库”的作用以稳定中间体。下面主要介绍该络合物的合成及性能测试。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

电喷雾质谱(ESI-MS)数据在 HP1100 LC/MSD 上测得,电喷雾离子源。1D 和 2D 的 ^1H 和 ^{13}C NMR 在 Varian INVOA 400 MHz 核磁仪上测得;紫外吸收光谱由 HP8453 仪器测得;红外光谱测试使用 JASCO FT/IR 430 光谱仪;电化学测试在 BAS100W 恒电位仪上进行。

2-氨基吡啶、 NH_4PF_6 和 $\text{Fe}(\text{OAc})_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ 购于 Acros,其余试剂为国产分析纯和化学纯试剂,溶剂使用前经标准方法除水。

1.2 络合物合成步骤

1.2.1 2-羟基-5-叔丁基-苯甲醛(2)的合成

化合物 2 的合成参照文献[4]。将 4-叔丁基苯酚(31 g, 0.21 mol)加入到甲醇镁(150 g 的含镁 8% 质量分数的甲醇溶液; 12 g, 0.14 mol)中,混合物加热回流。蒸出一半的甲醇后再加入甲苯(150 mL)。蒸出甲苯与甲醇的共沸物,使温度升高至 95°C 。在 1 h 内分批加入多聚甲醛(22 g, 0.73 mol)和甲苯(80 mL)的混合物,同时共沸蒸出反应产生的甲醇,并维

持反应温度在 95°C 。加料后继续在 95°C 下搅拌 1 h,冷却至室温,缓慢加入 10% 的硫酸(220 mL),在 $30 \sim 40^\circ\text{C}$ 下搅拌 2 h 进行水解。分液后的水相用甲苯(2×50 mL)萃取,合并后的有机相分别用 10% 的硫酸(30 mL)和水(30 mL)洗。减压蒸干溶剂得黄色油状物,以石油醚为展开剂经硅胶柱分离得产品 28 g(产率 76%)。 ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 1.32 (s, 9H, *t*-butyl—ph), 6.92 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H, ph—H), 7.51 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H, ph—H), 7.57 (dd, $J = 8.7$ 和 2.2 Hz, 1H, ph—H), 10.82 (s, 1H, phCO—H)。

1.2.2 2-[(吡啶-2-甲基)氨基-甲基]-4-叔丁基-苯酚(4)的合成

将 2-氨基吡啶(1.40 g, 13.0 mmol)和 2(2.4 g, 13.6 mmol)的甲醇(15 mL)溶液室温下搅拌 30 min。 0°C 下在 30 min 内分批加入 NaBH_4 (0.18 g, 4.6 mmol),再于室温下继续反应 4 h。溶剂减压蒸干后得到的油状物用 EtOAc/EtOH(95:5)作洗脱液经硅胶柱纯化得 1.9 g 产品(产率 55%),熔点 $95 \sim 97^\circ\text{C}$ 。 ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 1.26 (s, 9H, ph—butyl), 3.94 (s, 2H, butyl—ph— CH_2N), 4.00 (s, 2H, py— CH_2N), 6.80 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, py), 6.97 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H, ph), 7.19 (d, $J = 2.6$ Hz, 1H, ph), 7.21 (t, $J = 7.8$ Hz, 1H, py), 7.24 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, py), 7.66 (td, $J = 7.8$ 和 1.4 Hz, 1H, py), 8.58 (d, $J = 4.6$ Hz, 2H, py)。

1.2.3 2,6-二(羟甲基)-4-甲基苯酚(5)的合成

化合物 5 和 6 的合成参照文献[5]。对甲酚(2 g, 18.5 mmol)加入到含有乙醇(30 mL)、NaOH(5 mol/L, 10 mL)的 40 mL 甲醛(37% 质量分数的水溶液; 15 g, 0.5 mol)中,溶液在 50°C 下搅拌 1 h。减压蒸除 2/3 的溶剂后,用 HCl(4 mol/L)中和,得到的黄色混合物用乙酸乙酯(3×20 mL)萃取。合并后的有机相经 MgSO_4 干燥,过滤,减压蒸干溶剂得微黄色固体,乙酸乙酯重结晶得产品 2.2 g(产率 70%),熔点 $127 \sim 128^\circ\text{C}$, ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 2.20 (s, 3H, ph— CH_3), 4.52 (s, 4H, ph— CH_2OH), 6.93 (s, 2H, ph—H)。

1.2.4 2,6-二(氯甲基)-4-甲基苯酚(6)的合成

将含有化合物 5(2.5 g, 14.9 mmol)的二氯甲烷(12.5 mL)溶液滴加到含有二氯亚砷(7.0 g, 60 mmol)的二氯甲烷(25 mL)溶液中,室温下搅拌 24 h。向溶液中倒入 25 mL 的冰,用 NaOH

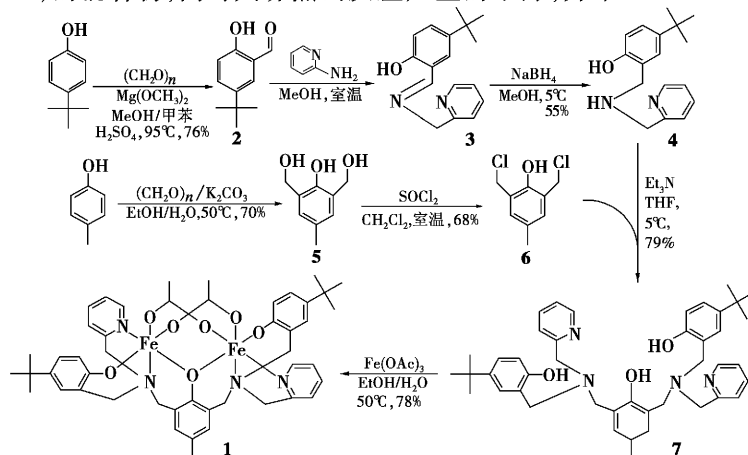


图 2 络合物合成路线

(1 mol/L)将溶液调到 pH 6。分液,水相用二氯甲烷(3 × 25 mL)萃取,合并后的有机相用 NaCl 溶液(30 mL)洗,Na₂SO₄ 干燥,过滤,减压蒸干溶剂得黄色固体,粗品经正己烷重结晶得产品 2.1 g(产率 68%)。熔点 79 ~ 80 °C, ¹H NMR(CDCl₃, 400 MHz) δ: 2.25(s, 3H, ph-CH₃), 4.63(s, 4H, ph-CH₂Cl), 7.06(s, 2H, ph-H)。

1.2.5 2,6-二{[(2-羟基-5-叔丁基苄基)(吡啶-2-甲基)-氨基]-甲基}-4-甲基苯酚(7)的合成

将化合物 6(0.33 g, 1.6 mmol)和化合物 4(0.89 g, 3.3 mmol)溶解在四氢呋喃(10 mL)中,加入三乙胺(0.2 mL)作缚酸剂,室温下搅拌 1 h。用乙酸乙酯/甲醇(体积比 95:5)作展开剂经硅胶柱纯化得产品 0.85 g(产率 79%)。熔点 152 ~ 153 °C, ¹H NMR(CDCl₃, 400 MHz) δ: 1.26(s, 18H, ph-*t*-butyl), 2.20(s, 3H, ph-CH₃), 3.80(s, 4H, *p*-cresol-CH₂N), 3.82(s, 4H, *t*-butyl-ph-CH₂N), 3.88(s, 4H, py-CH₂N), 6.76(d, *J* = 8.2 Hz, 2H, py), 6.89(s, 2H, *p*-cresol), 7.00(d, *J* = 1.9 Hz, 2H, *t*-butyl-ph), 7.14(dd, *J* = 8.5 和 1.9 Hz, 2H, *t*-butyl-ph), 7.20(t, *J* = 6.1 Hz, 2H, py), 7.26(d, *J* = 7.2 Hz, 2H, py), 7.64(t, *J* = 7.8 Hz, 2H, py), 8.60(d, *J* = 4.7 Hz, 2H, py)。 ¹³C NMR(CDCl₃, 100 MHz) δ: 20.61, 31.79, 34.09, 54.96, 57.19, 57.71, 116.16, 121.11, 122.60, 122.61, 123.86, 126.05, 126.89, 127.93, 131.54, 137.22, 141.82, 148.64, 154.04, 155.19, 157.18。(ES I-MS): *m/z* 673.3[M + H]⁺, 695.3[M + Na]⁺。

1.2.6 双核铁络合物(1)的合成

将 NaOH(1 mol/L, 0.1 mL)和 Fe(OAc)₃(H₂O)₉(122 mg, 0.31 mmol)加入到溶有 7(100 mg, 0.15 mmol)的乙醇/水(体积比 85:15, 3 mL)溶液中,在 50 °C 下搅拌 20 min。过滤后将 1 mL 饱和 NH₄PF₆ 水溶液加入到紫色滤液中,0 °C 下静置 12 h 使之完全沉降。过滤,固体用冷的甲醇洗,干燥后得棕色固体产品 122 mg(78%)。ESI-MS: *m/z* 899.3[M - PF₆]⁺。

1.3 光谱性能测试

紫外-可见光谱测定时,将样品用乙腈配成 2.0 × 10⁻⁵ mol/L 的溶液,采用 1 cm 石英吸收池。测定前,用乙腈溶液作空白。测定红外光谱时使用 KBr 压片法。

1.4 氧化还原电位的测定

采用三电极体系:以玻璃碳电极(Φ = 3 mm)为工作电极,铂丝为对电极,非水相 Ag/Ag⁺(0.01 mol/L 的 AgNO₃ 乙腈溶液)作参比电极。溶剂为乙腈

(99%, 光谱纯, Acros), 支持电解质为六氟磷四丁基铵(TBAPF₆, 99.9%, 电化学纯, Fluka)。室温下测试,以 0.1 mol/L TBAPF₆ 的乙腈溶液做空白试验,样品浓度为 1 mmol/L。测试前通高纯氩 30 min 以除氧,测试中保持氩气氛。

2 结果与讨论

2.1 IR 光谱

络合物 1 的红外光谱测试范围为 400 ~ 4 000 cm⁻¹。依据其特征吸收峰并与配体 7 比较,络合物 1 各峰归属如下: 2 958, 2 907, 2 868 cm⁻¹(m, ν_{C-H}, 芳环); 1 608, 1 488 cm⁻¹(m, ν_{C=C}, 芳环); 1 384, 1 362 cm⁻¹(w, δ_{C-H}, 芳环); 798, 760 cm⁻¹(m, γ_{C-H}, 芳环); 569 cm⁻¹(s, ν_{a,C=O}, 羧基); 430 cm⁻¹(s, ν_{s,C=O}, 羧基); 845 cm⁻¹(s, ν_{a,P-F}, PF₆); 557 cm⁻¹(m, δ_{P-F}, PF₆); 640, 598 cm⁻¹(ν_{Fe-O-Fe})。另外,配体 7 在 1 298 cm⁻¹(m, δ_{O-H})和 1 111 cm⁻¹(m, ν_{C-O})处特征峰没有出现在络合物 1 的谱图中,表明酚羟基上的氢已脱除并键合了 Fe, 配体都参与了络合。Δν = ν_{a,C=O} - ν_{s,C=O} = 139 cm⁻¹, 表明 Fe(III, III)中作为桥基的 2 个羧基是对称的(不对称螯合的羧基配体的 Δν ≥ 164 cm⁻¹)^[6]。

2.2 UV-Vis 吸收

络合物 1 在紫外区 λ = 280 nm 处较强的吸收峰是由配体 π → π* 电荷转移(LC)产生的^[7]。345 nm 是作为桥基的酚与 Fe(III)之间电荷转移吸收峰,因为在双核 Fe(III, III)络合物中,桥联酚羟基-Fe(III)电荷转移(LMCT)的吸收峰位于 320 ~ 400 nm 之间^[8]。可见光区的吸收峰可能源于非桥联酚或吡啶环的 LMCT。六配位 Fe 的配体场(LF)的特征吸收在可见光区,强度较弱(ε < 500 L · mol⁻¹ · cm⁻¹)^[9]。

2.3 电化学测试

通过循环伏安法(CV)和微分脉冲伏安法(DPV)对络合物进行了电化学测试(见图 3)。从 CV 曲线的还原部分可观察到一对可逆峰(标号 2, E_{1/2} = -0.15 V, ΔE_p = 105 mV),属于 Fe₂(III, III)/Fe₂(II, III)。另一对峰(标号 1)在 CV 中不明显,可通过 DPV 观察到(E_{1/2} = -0.54 V, ΔE_p = 120 mV),属于 Fe₂(III, II)/Fe₂(II, II)。而对于络合物的氧化部份,可观察到一对准可逆的氧化还原峰(E_{1/2} = 1.33 V, ΔE_p = 217 mV),属于 Fe₂(IV, IV)/Fe₂(III, IV)。

(下转第 44 页)

量分数 24% ~ 28%，密度 0.87 g/cm³，市售。

双螺杆挤出机，TSSJ-25，晨光塑料机械研究所；注塑机，PS40SE5ASE，日本日精树脂株式会社。

1.2 实验方法

PA6 及 NCH 在 95 ~ 100℃ 下鼓风干燥 8 ~ 10 h，再分别与 POE 混合，混合料在双螺杆中熔融挤出造粒。上述制得的粒料在 95 ~ 100℃ 下鼓风干燥 8 ~ 10 h，再注塑成标准试样用于性能测试。拉伸强度按 GB/T1040—1992 测试；缺口冲击强度按 GB/T1043—1993 测试；冲击试样的断面经表面喷金后在 Cambridge 250 型扫描电子显微镜上观察并拍照。

2 结果与讨论

2.1 POE-g-MAH 质量分数对复合材料缺口冲击强度的影响

图 1 为 POE-g-MAH 质量分数对 PA6/POE-g-MAH、NCH/POE-g-MAH 复合材料缺口冲击强度的影响。可知 PA6/POE-g-MAH 和 NCH/POE-g-MAH 复合材料冲击性能曲线都呈“S”型，POE-g-MAH 质量分数在 8% ~ 10% 之间复合材料发生脆韧转变。由于脆韧转变只与基体中橡胶粒子间距相关^[3]，所以经蒙脱土插层后的 PA6 并不影响 POE-g-MAH 在体系中的分散。

在脆韧转变点前，PA6/POE-g-MAH 和 NCH/POE-g-MAH 两种复合材料的冲击强度几乎相同；而在脆韧转变点后，NCH/POE-g-MAH 复合材料的

冲击强度远高于 PA6/POE-g-MAH，可能是 NCH 中的片状纳米蒙脱土的高表面活性使 PA6 基体分子链间形成物理交联^[4]。而脆韧转变前材料为脆性断裂，分子链间形成物理交联对冲击强度影响不大。

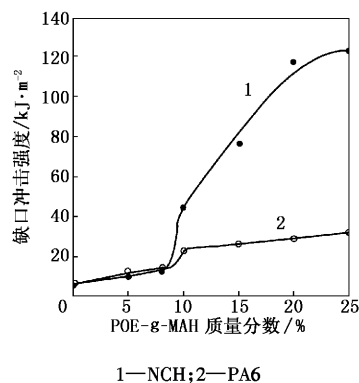
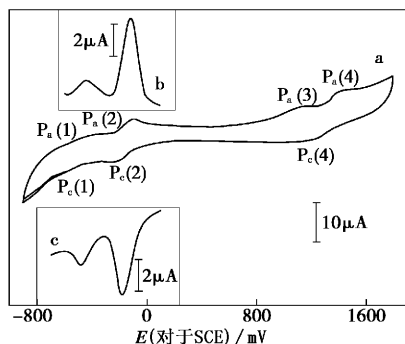


图 1 POE-g-MAH 含量对复合材料冲击强度的影响

2.2 POE-g-MAH 质量分数对复合材料拉伸强度的影响

图 2 为 POE-g-MAH 质量分数对 PA6/POE-g-MAH、NCH/POE-g-MAH 复合材料拉伸强度的影响，可以看到在 POE-g-MAH 质量分数为 5% 时，PA6/POE-g-MAH 复合材料的拉伸强度略高于纯 PA6，之后随 POE-g-MAH 量的增加而线性降低，这可能是由于 POE-g-MAH 中的 MAH 与 PA6 中的酰胺基反应，形成化学交联^[2]，但由于 POE-g-MAH 本身模量较低，其含量高时复合材料拉伸强度是随 POE-g-MAH 量的增加而线性降低。

(上接第 42 页)



以 0.1 mol/L TBAPF₆ 为支持电解质

(a) 循环伏安法， $v = 100 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ ；(b)、(c) 微分脉冲伏安法

图 3 乙腈中测得的电化学数据

对于另一对氧化还原电位，即使在较高的扫速 ($v = 300 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$) 下或用 DPV 法，也只能观察到 P_a 在

1.13 V。

参考文献

- [1] Wallar B J, Lipscomb J D. [J]. Chem Rev, 1996, 96: 2625 - 2657.
- [2] Merckx M, Kopp D A, Sazinsky M H, et al. [J]. Angew Chem Int Ed, 2001, 40: 2782 - 2807.
- [3] Jensen M P, Lange S J, Mehn M P, et al. [J]. J Am Chem Soc, 2003, 125: 2113 - 2128.
- [4] Aldred R, Johnston R, Levin D, et al. [J]. J Chem Soc Perkin Trans 1, 1994: 1823 - 1831.
- [5] Lubben M, Feringa B L. [J]. J Org Chem, 1994, 59: 2227 - 2233.
- [6] Deacon G B, Phillips R J. [J]. Coord Chem Rev, 1980, 33: 227 - 250.
- [7] Sullivan B P, Salmon D J, Meyer T J. [J]. Inorg Chem, 1978, 17: 3334 - 3341.
- [8] Diril H, Chang H R, Nilges M J, et al. [J]. J Am Chem Soc, 1989, 111: 5102 - 5114.
- [9] Yamaguchi K, Sawyer D T. [J]. Inorg Chem, 1985, 24: 971 - 976. ■