

Протонный обмен внутрициклических групп NH диметилового эфира дейтеропорфирина IX и молекул воды по данным обменной спектроскопии EXSY

А. Л. Столыпко,^a Д. В. Белых^{b@}

^aСыктывкарский государственный университет, 167000 Сыктывкар, Российская Федерация

^bИнститут химии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук, 167982 Сыктывкар, Российская Федерация

@E-mail: belykh-dv@mail.ru

В настоящей работе методом EXSY измерена константа скорости протонного обмена с участием молекул воды и внутрициклических групп NH диметилового эфира дейтеропорфирина IX с учетом вклада кросс-релаксации. Сопоставление с аналогичными измерениями методом DOSY позволяет построить более полную картину обменных процессов для диметилового эфира дейтеропорфирина IX, указать основные лимитирующие стадии и определить соответствующие им константы скорости.

Ключевые слова: Порфирины, EXSY спектроскопия, протонный обмен, дейтеропорфирин IX.

Proton Exchange of Intracyclic NH Groups of Deuteroporphyrin IX Dimethyl Ester and Water Molecules according to the Data of Exchange Spectroscopy (EXSY)

Alexander L. Stolypko,^a and Dmitriy V. Belykh^{b@}

^aSyktывkar State University, 167000 Syktывkar, Russia

^bInstitute of Chemistry of Komi Scientific Centre of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 167982 Syktывkar, Russia

@Corresponding author E-mail: belykh-dv@mail.ru

In this work, the EXSY method was used to measure the proton exchange rate constant with the participation of water molecules and intracyclic NH groups of dimethyl ester of deuteroporphyrin IX, taking into account the contribution of cross-relaxation. Comparison with the similar measurements by the DOSY method makes it possible to construct a more complete picture of exchange processes for dimethyl ester of deuteroporphyrin IX, to point out the main limiting stages, and determine the corresponding rate constants.

Keywords: Porphyrins, EXSY spectroscopy, proton exchange process, deuteroporphyrin IX.

Введение

Обменные взаимодействия с участием протонов внутрициклических групп NH порфиринов играют значительную роль в образовании супрамолекулярных систем (ассоциатов, различных агрегатов, молекулярных кристаллов, органо-неорганических систем

и др.),^[1-3] а также при реализации рецепторной^[4,5] и органо-каталитической^[5,6] функций порфиринов и их аналогов. Ранее нами было показано, что обменные процессы с участием внутрициклических групп NH синтетических и природных порфиринов с молекулами воды, содержащейся в CDCl₃ и C₆D₆, проявляются в DOSY увеличением коэффициентов самодиффузии D

протонов NH (D_{NH}) по сравнению с протонами C-H (D_{CH}) порфириновой молекулы.^[7,8] Кроме того, установлено, что зависимости величин D_{NH} и D_{W} от интервала между градиентными импульсами в методе DOSY (время диффузии t_{m}) соответствуют условию быстрого обмена как в CDCl_3 , так и в C_6D_6 .^[7,8] Измерены константы скорости переноса внутрициклического протона NH порфирина на молекулу воды (k_{NH}) и обратного процесса (k_{W}), для диметилового эфира дейтеропорфирина IX в CDCl_3 ^[7] и для ряда природных и синтетических порфиринов в C_6D_6 .^[8] Причем оказалось, что k_{W} всегда больше, чем k_{NH} . Несовпадение величин k_{NH} и k_{W} можно объяснить образованием долгоживущих ассоциатов вода-порфирин за счет межмолекулярных водородных связей с участием внутрициклических атомов азота порфирина, в результате чего уменьшение величины D_{W} происходит не только вследствие протонного обмена, но и в результате диффузии воды в составе ассоциата,^[7,8] образование которого является необходимым условием протекания обмена.^[9] Энергия активации процессов, обуславливающих изменение D_{W} и D_{NH} в среде C_6D_6 , соответствует разрыву водородных связей при образовании и разрушении ассоциатов порфирина-вода,^[10] что подтверждает предложенное объяснение. В то же время метод DOSY позволяет исследовать только те процессы, которые связаны с изменением коэффициента самодиффузии D протонов. Полную информацию об обменных процессах можно получить при помощи метода обменной спектроскопии EXSY, который широко используется для изучения обменных процессов,^[11–20] в том числе протонного обмена.^[11,12,15] Методика двухмерной спектроскопии EXSY основана на том, что с помощью двух ($\pi/2$)-импульсов, разделенных временем эволюции t_1 , создаются неравновесные состояния намагниченности одновременно для всех частот спектра ЯМР исследуемого соединения, затем через время смешивания t_{m} подается анализирующий импульс. Фурье-преобразование полученного сигнала по параметрам (t_1 , t_{m}) позволяет получить двухмерный спектр и, таким образом, одновременно проследить все пути переноса намагниченности между отдельными линиями спектра в результате химического обмена.^[11] При этом динамическое химическое равновесие в образце никак не нарушается. Формально эффекты химического обмена и динамического ядерного эффекта Оверхаузера (кросс-релаксация)^[11] проявляются одинаково. Однако на практике химический обмен для малых и средних молекул обычно приводит к появлению интенсивных кросс-пиков в спектре EXSY, совпадающих по знаку величины с диагональными пиками, а для кросс-релаксации между близко расположенными ядрами кросс-пики (NOESY) малы и имеют противоположный знак.^[11,20] В настоящей работе методом EXSY исследовались обменные процессы с участием молекул воды и внутрициклических групп NH диметилового эфира дейтеропорфирина IX.

Эксперимент

Диметиловый эфир дейтеропорфирина IX (**1**) получен согласно работе,^[21] спектральные характеристики совпадают

с описанными нами ранее.^[8] Исследуемый раствор запаян в стандартные ампулы ЯМР фирмы Bruker диаметром 5 мм. Все ранее проведенные эксперименты для данного образца показывают, что образцы стабильны в течение, по крайней мере, 18 месяцев. Измерения были выполнены на спектрометре Bruker Avance II (рабочая частота 300 МГц). Спектры ЯМР и EXSY обрабатывались с использованием программы MestReNova 14.1.0-24037. Концентрация исследуемых соединений в C_6D_6 0.005–0.010 ммоль/мл. Концентрация воды в C_6D_6 0.01 ммоль/мл. Параметры эксперимента EXSY: импульсная последовательность poesyph фирмы Bruker, количество накоплений NS = 32, число градиентных спектров TD (F1) = 256, каждый спектр имеет частоту дискретизации 16384, время смешивания D8 варьировалось в интервале от 0 до 0.4 с; релаксационная задержка D1 = 5 с (времена релаксации для протонов воды и NH-протонов не превышают 2 с). Соотношение сигнал/шум (SNR) для сигналов внутрициклических NH-протонов и воды соответственно 118 и 162 (NS = 16). Эксперименты проводились при стабилизации температуры и с использованием воздушной подушки для уменьшения влияния внешних вибраций. Скорость потока воздуха в термостате 670 л/час.

Результаты и обсуждение

Как уже было отмечено ранее, обменная спектроскопия (EXSY) используется для количественной оценки скорости протонного обмена. Кинетические параметры обменного процесса можно измерить путем регистрации серии EXSY-спектров с различным временем смешивания.^[12] Спектры EXSY для диметилового эфира дейтеропорфирина IX (**1**) в дейтерированном бензоле (C_6D_6) получены при стабилизированной температуре 25 °С для значений времени смешивания t_{m} от 0 с до 0.4 с с шагом 0.02 с. Со спектрами и таблицами интегралов можно ознакомиться в приложении. Пример спектра EXSY приведен на Рисунке 1. В качестве измеряемых параметров для спектров EXSY использовались интегралы диагональных пиков для воды и группы NH, а также кросс-пики для спектральных линий воды и группы NH. Зависимости интегралов данных пиков от времени смешивания t_{m} представлены на Рисунке 2.

Задача о двухстороннем обмене рассмотрена в работе.^[22] Обмен между молекулами А и В для случая химических реакций первого порядка описывается константой скорости обмена k , причем для направления обмена $A \rightarrow B$ соответствующая скорость обмена $k_{\text{ab}} = X_{\text{b}}k$, а для $B \rightarrow A$ $k_{\text{ba}} = X_{\text{a}}k$, где X_{a} и X_{b} – мольные соотношения молекул А и В. Для случая, когда разность химических сдвигов для молекул А и В много больше ширины линий для этих молекул, что справедливо в нашем случае, в работе^[22] получены аналитические выражения, описывающие зависимость интегралов диагональных I_{aa} , I_{bb} и недиагональных I_{ab} пиков в спектре NOESY или EXSY. Скорости спин-решеточной релаксации для молекул А и В, следуя работе,^[22] обозначим как $R_{1\text{a}} = 1/T_{1\text{a}}$ и $R_{1\text{b}} = 1/T_{1\text{b}}$, где $T_{1\text{a}}$ и $T_{1\text{b}}$ – времена спин-решеточной релаксации для спектральных линий молекул А и В. Скорость дипольной спин-решеточной релаксации при непосредственном взаимодействии молекул А и В – R_{d} . Величина R_{d} определяет величины интегралов кросс-пиков в спектрах EXSY в отсутствие обмена. При использовании обозначений работы^[22]:

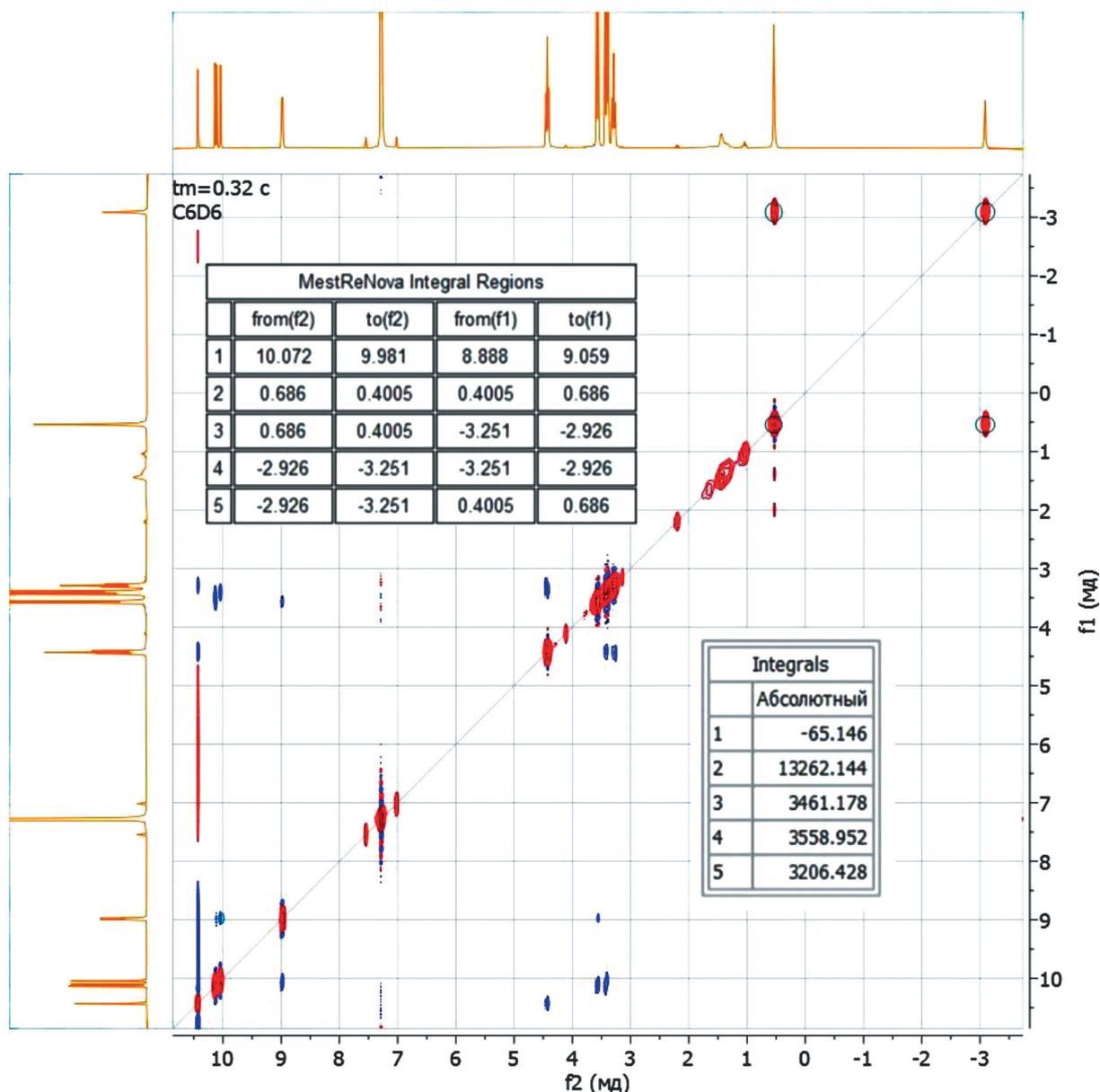


Рисунок 1. Пример спектра EASY диметилового эфира дейтеропорфирина IX для времени смешивания $t_m = 0.32$ с. Указаны величины интегралов I_{aa} (2), I_{bb} (4), I_{ab} (3,5) и I_{dd} (1), а также области измерения (Integral Regions) интегралов. Вся серия спектров приведена в *Приложении/Supporting Information*.

$$R_{aa} = R_{1a} + 2X_b R_d + X_b k; R_{bb} = R_{1b} + 2X_a R_d + X_a k; R_c = R_d - k;$$

$$\sigma = \frac{1}{2}(R_{aa} + R_{bb}); \delta = \frac{1}{2}(R_{aa} - R_{bb}); D = \sqrt{\delta^2 + X_a X_b R_c^2},$$

для интегралов I_{aa} , I_{bb} и I_{ab} в работе [21] получены выражения:

$$I_{aa} = X_a e^{-\sigma t_m} \left[\cosh(D t_m) - \frac{\delta}{D} \sinh(D t_m) \right] \quad (1)$$

$$I_{bb} = X_b e^{-\sigma t_m} \left[\cosh(D t_m) + \frac{\delta}{D} \sinh(D t_m) \right] \quad (2)$$

$$I_{ab} = I_{ba} = X_a X_b \frac{R_c}{D} e^{-\sigma t_m} \sinh(D t_m) \quad (3)$$

Экспериментальные зависимости интегралов I_{aa} , I_{bb} и I_{ab} от t_m (см. *Приложение/Supporting Information* и Рисунок 2), построенные при помощи программы MestReNova, аппроксимировались соответствующими зависимостями (1), (2) и (3) методом наименьших квадратов. Времена спин-решеточной релаксации T_{1a} и T_{1b} были измерены с помощью стандартной методики «инверсия-восстановление» с использованием программы *tlig* фирмы Bruker. Для линий воды (молекула А) и NH дейтеропорфирина (молекула В) были получены значения $T_{1a} = 2.00 \pm 0.01$ с и $T_{1b} = 0.88 \pm 0.03$ с.

Для оценки величины скорости дипольной релаксации R_d измерялась зависимость от t_m интеграла кросс-пика I_{dd} для сигналов протонов дейтеропорфирина 10.1 ppm и 8.98 ppm (протоны в *мезо*-положениях 5, 10

и β -положениях пиррольных колец 3 и 8, соответственно). Протоны, отвечающие сигналам при 10.1 ppm и 8.98 ppm, не участвуют в химическом обмене, и расстояние между ними фиксировано (около $2.5 \text{ \AA}^{[21]}$). Сопоставление данных работ^[1,21] дает близкое по величине расстояние между протонами воды и NH в ассоциате ($2.3\text{--}2.6 \text{ \AA}$).

Тогда выражение (3) позволяет непосредственно сравнивать два случая: а) $R_c = R_d$ (величина интеграла для кросс-пика протонов 10.1 ppm и 8.98 ppm целиком определяется кросс-релаксацией) и б) $R_c = R_d - k$ (для кросс-пиков «вода-NH-протон» вклад обмена преобладает над кросс-релаксацией и интеграл приобретает противоположный случаю (а) знак). Из сравнения зависимостей измеренных интегралов для пар протонов (а) и (б) от t_m можно определить $R_d = 0.034 \pm 0.04 \text{ с}^{-1}$. Рисунок 3 наглядно иллюстрирует соотношение вкладов обмена и кросс-релаксации для интеграла I_{ab} .

Таким образом, величины R_d , T_{1a} и T_{1b} измерены, величины мольных соотношений $X_a : X_b = 0.68 \pm 0.01 : 0.32 \pm 0.01$ определяются из интегральных интенсивностей сигналов в спектрах ЯМР ^1H . Тогда единственным параметром аппроксимации экспериментальных зависимостей интегралов I_{aa} , I_{bb} и I_{ab} теоретическими зависимостями (1), (2) и (3) остается константа химического обмена k . Константу k , полученную методом EXSY, обозначим как k_{EX} . При помощи метода наименьших квадратов константу k_{EX} можно определить для каждой зависимости I_{aa} , I_{bb} и I_{ab} . Из экспериментальной зависимости I_{aa} для воды и формулы (1) получаем $k_{EX} = 3.89 \pm 0.59 \text{ с}^{-1}$, для I_{bb} NH-протона и формулы (2) $k_{EX} = 3.54 \pm 0.41 \text{ с}^{-1}$, для кросс-пика вода-NH и формулы (3) $k_{EX} = 3.56 \pm 0.06 \text{ с}^{-1}$. Погрешности аппроксимации рассчитывались стандартными методами наименьших квадратов и решением обратной задачи теории погрешностей. Совпадение величин k_{EX} в пределах погрешностей для всех трех независимых измерений

дает экспериментальное подтверждение хорошей применимости теоретического описания^[22] к нашему случаю. Очевидно, наиболее точным результатом для k_{EX} следует считать величину, измеренную для кросс-пика «вода-NH» $k_{EX} = 3.56 \pm 0.06 \text{ с}^{-1}$. Измерение констант скорости в методах EXSY по временной зависимости кросс-пиков, кроме того, является общепринятым методом определения констант химического обмена.^[11,13,16,22,23]

Ранее обменные процессы в этой же системе нами были исследованы при помощи DOSY^[8] и определены константы скорости процессов переноса протона с молекулы воды на молекулу порфирина и переноса протона с внутрициклической группы NH порфирина на молекулу воды, а также соответствующие энергии активации (Схема 1). Интересно, что k_{NH} и k_W отличаются между собой и не совпадают с определенной в настоящей работе k_{EX} . Полученные данные можно объяснить на основе представлений о протонном обмене,^[9] согласно которым необходимым условием реализации протонного обмена является предварительная ассоциация участвующих в нем молекул за счет образования межмолекулярных водородных связей (для описанного в настоящей работе случая возможные процессы представлены на Схеме 1). Поскольку определение k_{NH} и k_W основано на измерении коэффициентов самодиффузии D для протонов групп NH порфирина и молекул воды при различных t_m , процессы, которым эти константы соответствуют, связаны с переносом протона с более трансляционно подвижной молекулы на менее подвижную (k_W) и наоборот (k_{NH}). Это соответствует образованию и распаду ассоциатов порфирина-вода, происходящим в ходе протонного обмена между молекулами этих соединений. Несовпадение значений k_{NH} и k_W и соответствующих им E_a согласуется с этим предположением, поскольку эти величины должны характеризовать разные процессы. Как было отмечено

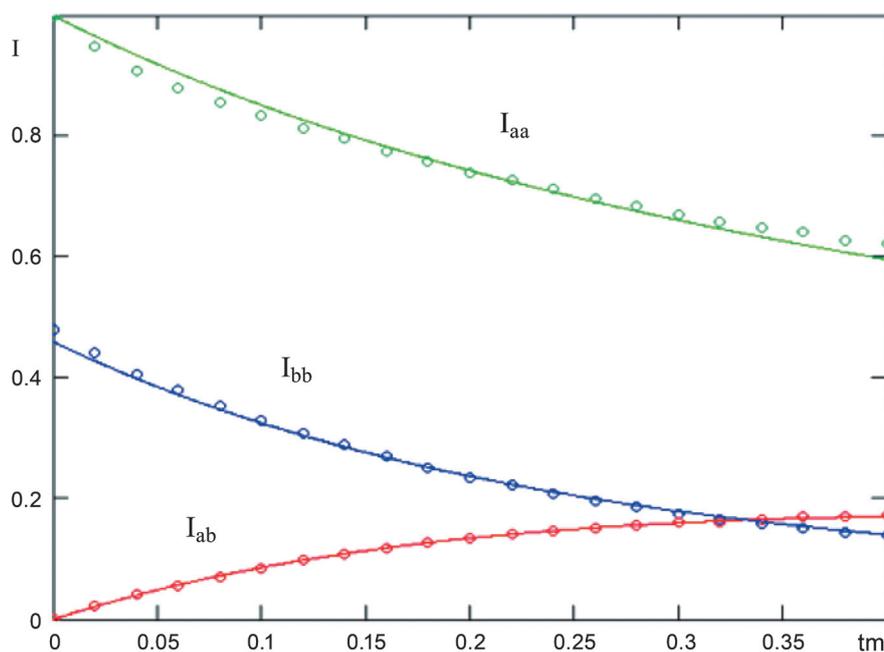


Рисунок 2. Экспериментальные значения (точки) и кривые аппроксимации (сплошные линии) для зависимостей интегралов I_{aa} , I_{bb} и I_{ab} от t_m .

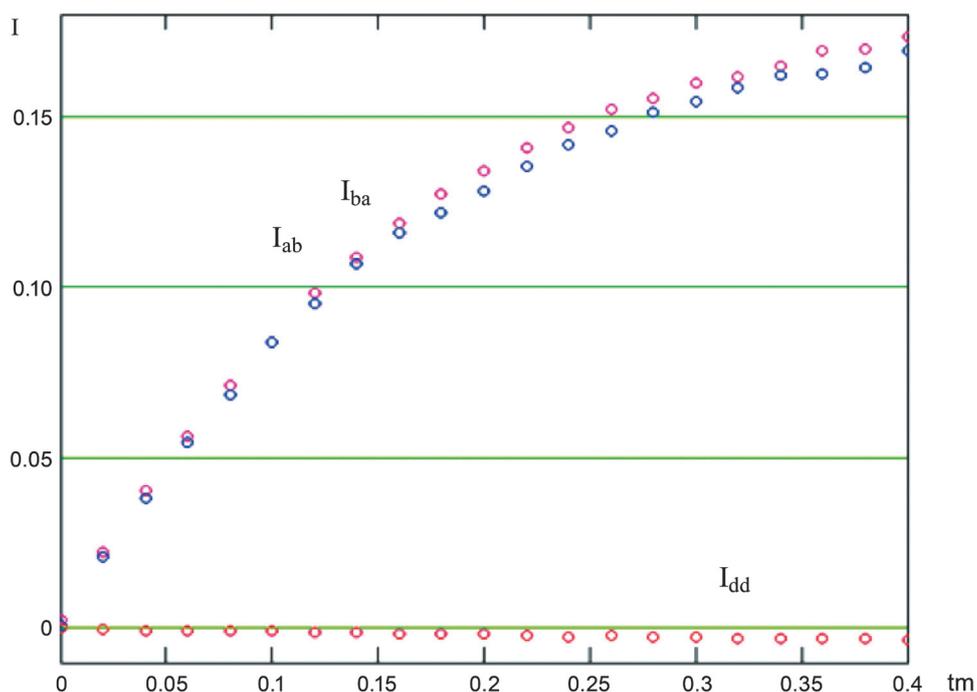
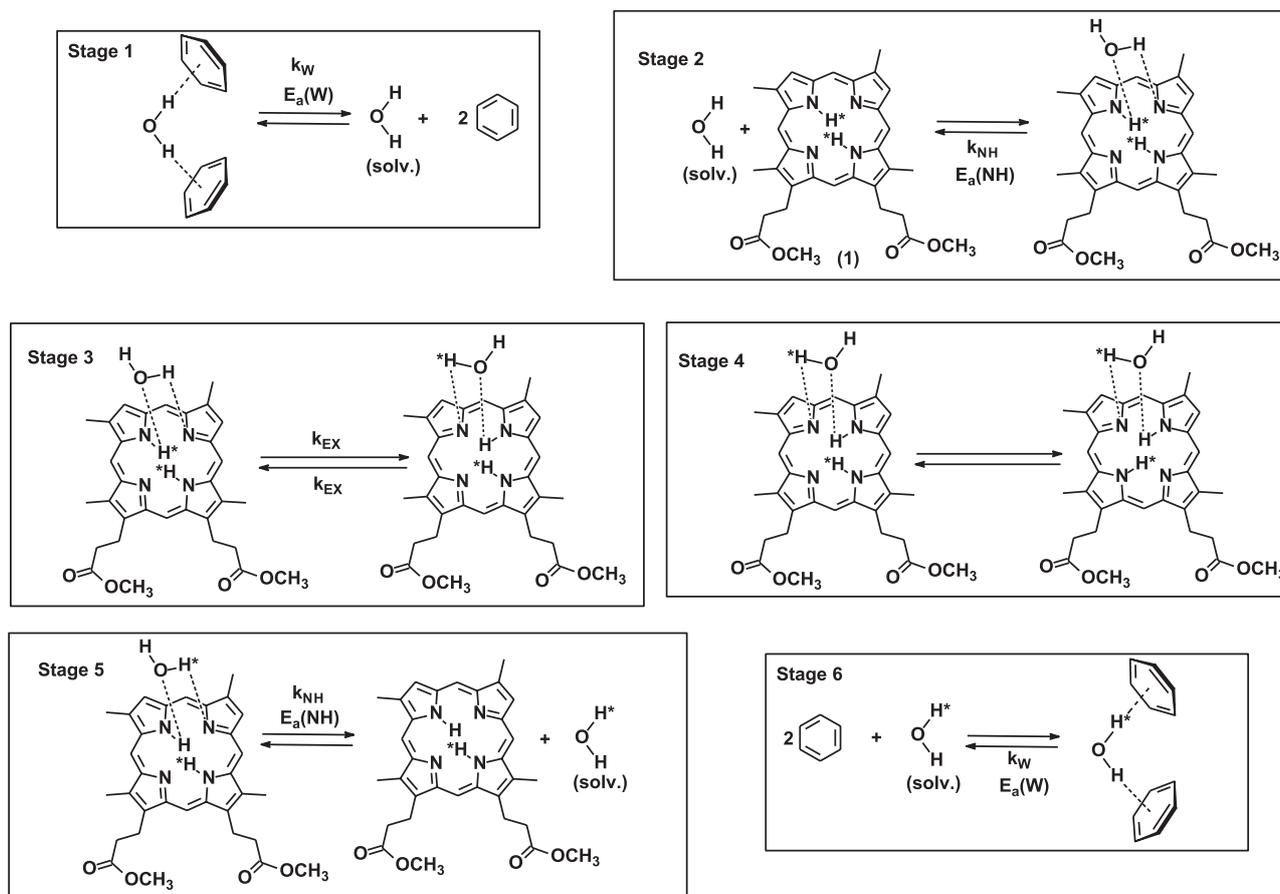


Рисунок 3. Экспериментальные зависимости от t_m : I_{ab} , I_{ba} (кросс-пики между сигналами внутрициклических протонов NH и молекулы воды) и I_{dd} (кросс-пик для не участвующих в обмене протонов 10.1 ppm и 8.98 ppm).



$$\begin{aligned}
 k_W &= 5.8 \pm 0.4 \text{ c}^{-1},^{[8]} E_a(W) = 27.3 \pm 1.3 \text{ кДж/моль},^{[8]} \text{ стадии 1, 6;} \\
 k_{NH} &= 0.67 \pm 0.03 \text{ c}^{-1},^{[8]} E_a(NH) = 15.8 \pm 0.7 \text{ кДж/моль},^{[8]} \text{ стадии 2, 5} \\
 k_{EX} &= 3.56 \pm 0.06 \text{ c}^{-1}, \text{ стадия 3.}
 \end{aligned}$$

Схема 1.

выше, константа скорости обмена k_{EX} , полученная методом EXSY, отличается от k_{NH} и k_W . Неодинаковые значения этих констант согласуются с предположением о том, что k_{NH} и k_W характеризуют процессы, связанные с образованием и распадом ассоциатов диметилового эфира дейтеропорфирина и воды, в то время как k_{EX} относится непосредственно к обмену внутри ассоциата (Схема 1, стадия 3), то есть к процессу, который не влияет на D обменивающихся протонов.

В то время, как распад ассоциата порфирина-вода является реакцией первого порядка (Схема 1, стадии 2, 5), образование ассоциата порфирина-вода непосредственно из ассоциата молекулы воды с двумя молекулами бензола должно быть реакцией второго порядка, что не соответствует экспериментальным данным. В связи с этим логично предположить, что образованию ассоциата порфирина-вода предшествует формирование менее прочного сольвата молекулы воды, аналогичного описанному в работах^[24–26] (Схема 1, стадии 1 и 6). Эта реакция должна иметь первый порядок, она может быть лимитирующей стадией и в таком случае определяет скорость образования ассоциата в целом. В пользу этого предположения свидетельствует ранее определенная величина энергии активации этого процесса ($E_a(W)$, Схема 1), которая соответствует разрыву двух водородных связей между молекулой воды и двумя молекулами бензола.^[8] Аналогично из ассоциата порфирина-вода первоначально образуется менее прочный сольват молекулы воды. Таким образом, сопоставление результатов изучения обменных процессов с участием внутрициклических групп NH диметилового эфира дейтеропорфирина и молекул воды методами EXSY и DOSY позволяет построить более полную картину обменных процессов, предположительно указать основные лимитирующие стадии и определить соответствующие им константы скорости (Схема 1).

Заключение

Таким образом, в настоящей работе методом EXSY измерена константа скорости протонного обмена с участием молекул воды и внутрициклических групп NH диметилового эфира дейтеропорфирина IX (k_{EX}) с учетом вклада кросс-релаксации. Сопоставление с аналогичными измерениями методом DOSY позволяет построить более полную картину обменных процессов для диметилового эфира дейтеропорфирина IX, указать основные лимитирующие стадии и определить соответствующие им константы скорости.

Благодарности. Спектральные данные были получены при помощи оборудования ЦКП «Химия» Института химии Коми НЦ УрО РАН (г. Сыктывкар).

Список литературы

References

1. Thomas K.E., McCormick L.J., Vazquez-Lima H., Ghosh A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, *56*, 10088–10092.
2. Udaltsov A.V., Kazarin L.A., Sinani V.A., Sweshnikov A.A. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* **2002**, *151*, 105–119.
3. Udaltsov A.V., Bolshakova A.V., Vos J.G. *J. Mol. Struct.* **2014**, *1065–1066*, 170–178.
4. Yang J., Wang Z., Hu K., Li Y., Feng J., Shi J., Gu J. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2015**, *7*, 11956–11964.
5. Kielmann M., Senge M.O. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2019**, *58*, 418–441.
6. Hikal W.M., Harmon H.J. *J. Hazardous Mater.* **2008**, *154*, 826–831.
7. Stolytko A.L., Belykh D.V. *Macroheterocycles* **2018**, *11*, 383–389.
8. Belykh D.V., Stolytko A.L. *Macroheterocycles* **2019**, *12*, 392–397.
9. Gragerov I.P., Pogorely V.K., Franchuk I.F. *Hydrogen Bond and Fast Proton Exchange*. Kiev: Nauk. Dumka, **1978**. 215 p. [Грагеров И.П., Погорелый В.К., Франчук И.Ф. *Водородная связь и быстрый протонный обмен*. Киев: Наук. думка, **1978**. 215 с.]
10. Stolytko A.L., Belykh D.V. *Macroheterocycles* **2019**, *12*, 398–402.
11. Ernst R., Bodenhausen G., Wokaun A. *Principles of Nuclear Magnetic Resonance in One and Two Dimensions*. ISBN 5-03-001394-6 (transl. into Russ., Moscow: Mir, 1990, 711 p.).
12. Hasani M., Nordstierna L., Martinelli A. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2019**, *21*, 22014–22021.
13. Dimitrov V.S., Vassilev N. G. *Magn. Reson. Chem.* **1995**, *33*, 739–744.
14. Krishnan V.V. *Inventions* **2019**, *4*, 13.
15. Green A.R., Li K., Lockard B., Young R.P., Mueller L.J., Larive C.K. *J. Phys. Chem. B* **2019**, *123*(22), 4653–4662.
16. Swartjes A., White P.B., Lammertink M., Elemans J.A.A.W., Nolte R.J.M. *Angew. Chem.* **2020**, *132*, 2–11.
17. Yatsunyk L.A., Ogura H., Ann Walker F. *Inorg. Chem.* **2005**, *44*, 2867–2881.
18. Ghini V., Chevance S., Turano P. *J. Inorg. Biochem.* **2019**, *192*, 25–32.
19. Zimmerman D., Goto J.J., Krishnan V.V. *PLoS ONE* **11**(8): e0160491.
20. Zhang T., Mao X.-A. *Appl. Magnet. Reson.* **2001**, *20*, 189–202.
21. *Porphyrins: Structure, Properties, Synthesis* (Enikolopyan N.S., Ed.), Moscow: Nauka, **1985**. 334 p. [Порфирины: структура, свойства, синтез (Ениколопян Н.С., ред.), М.: Наука, **1985**, 334 с.]
22. Jeener J., Meier B.H., Bachmann P., Ernst R.R. *J. Chem. Phys.* **1979**, *71*, 4546–4553.
23. Bento E.S., Bradley D.C., Hawkes G.E., Maia I.A., Sales K.D. *Magn. Reson. Chem.* **2000**, *38*, 331–335.
24. Slipchenko L.V., Gordon M.S. *J. Phys. Chem. A* **2009**, *113*, 2092–2102.
25. Oka K., Shibue T., Sugimura N., Watabe Y., Winther-Jensen B., Nishide H. *Sci. Rep.* **2019**, *9*, 223.
26. Tachikawa H., Iura R., Kawabata H. *Sci. Rep.* **2019**, *9*, 2377.

Received 25.01.2021

Accepted 02.03.2021