

Обменные процессы с участием производных хлорофилла *a* в среде C_6D_6 по данным EXSY

Д. В. Бельх,^{a@} А. Л. Столыпко^{a,b}

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

^bСыктывкарский государственный университет, 167000 Сыктывкар, 55 Российская Федерация

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

Посвящается академику РАН А. Ю. Цивадзе по случаю его юбилея

*Методом EXSY изучены процессы протонного обмена с участием производных хлорофилла *a* в среде C_6D_6 . Установлено, что по интенсивности участия в межмолекулярных обменных процессах два внутрициклических протона NH существенно различаются между собой, более активной является группа NH пиррольного кольца III. Показано, что, в дополнение к межмолекулярному протонному обмену с водой, происходит обмен непосредственно между внутрициклическими группами NH.*

Ключевые слова: Производные хлорофилла *a*, порфирины, спектроскопия EXSY, протонный обмен, метилпиррофеорбид *a*, хлорин *e*₆, DOSY.

Proton Exchange Processes Involving Chlorophyll *a* Derivatives in C_6D_6 Medium According to EXSY Data

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

^aInstitute of Chemistry of Komi Scientific Centre of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 167000 Syktyvkar, Russia

^bSyktyvkar State University, 167000 Syktyvkar, Russia

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

Dedicated to Academician A. Yu. Tsivadze on the occasion of his birthday

*The proton exchange processes involving chlorophyll *a* derivatives in the C_6D_6 medium were studied using EXSY method. It has been established that two intracyclic NH protons significantly differ in intensity of participation in intermolecular exchange processes, the NH group of the pyrrole ring III being more active. It has been shown that, in addition to intermolecular proton exchange with water, there is an exchange directly between intracyclic NH groups.*

Keywords: Chlorophyll *a* derivatives, porphyrins, EXSY spectroscopy, proton exchange, chlorin *e*₆, methyl porpheorbide *a*, DOSY.

Введение

Изучение протонного обмена с участием порфиринов и их аналогов представляет интерес как с точки зрения получения новой информации о реализации ре-

цепторной^[1,2] и органо-каталитической^[2,3] функций порфиринов и их аналогов, так и о формировании супрамолекулярных систем с участием порфириновых макрогетероциклов (агрегатов различного строения в растворах, органо-неорганических систем, образу-

щихся при взаимодействии порфиринов с неорганическими материалами, молекулярных кристаллов, и др.).^[1-8] Наличие в молекуле нескольких неэквивалентных обменивающихся протонов может существенно влиять на перечисленные процессы,^[1-8] поэтому детальная информация об участии данных протонов в обмене представляет значительный интерес.

Для изучения химического обмена в 70-90-х годах были разработаны двумерные методы ЯМР: Моррисом и Джонсоном – диффузионно упорядоченная спектроскопия (DOSY),^[9] Эрнстом и Джинером с сотрудниками – спектроскопия, основанная на ядерном эффекте Оверхаузера (NOESY).^[10,11] В дальнейшем методы DOSY и NOESY успешно применялись во многих работах, например, в цикле работ Бергера и Кабриты.^[12,13] Ранее в работах^[13-17] исследовался протонный обмен в растворе порфиринов различного строения в дейтерированном бензоле методами DOSY^[14,18] и NOESY.^[15-18] Методом DOSY показано, что существует быстрый протонный обмен между содержащейся в дейтеробензоле остаточной водой и внутрициклическими группами NH порфиринов. Совокупность результатов, полученных в работах^[14-18] позволяет заключить, что процесс образования устойчивых ассоциатов «порфиринов-вода» является лимитирующей стадией протонного обмена с участием диметилового эфира дейтеропорфирина IX. По сравнению с диметилловым эфиром дейтеропорфирина IX количество вариантов обмена в случае производных хлорофилла *a* увеличивается вследствие различий в химическом окружении внутрициклических групп NH, что приводит к увеличению числа неэквивалентных участников обмена. Обменивающиеся протоны в молекулах порфиринов в различном химическом окружении могут быть в разной степени задействованы в обменных процессах. Участие в обменных процессах может служить индикатором способности протонов участвовать в образовании водородной связи.^[8] Поскольку внутрициклические протоны NH хлорофинов имеют разные химические сдвиги, появляется возможность зафиксировать протонный обмен между внутрициклическими группами NH. В настоящей работе с помощью метода обменной спектроскопии EXSY (одной из разновидностей NOESY) изучены обменные процессы с участием производных хлорофилла *a* (1-3, Рисунок 1) в среде C₆D₆. Выбранные в качестве объектов исследования производные хлорофилла *a* имеют химически неэквивалентные внутрициклические протоны NH, что позволяет зафиксировать обменные процессы непосредственно между внутрициклическими группами NH, если таковые происходят. Метилпиррофеофорид *a* 1 отличается от производных хлорина *e*₆ 2, 3 наличием экзоцикла, который существенно влияет на химическое

окружение внутрициклических групп NH.^[8] Кроме того, хлорин 3 имеет на периферии макроцикла гидроксильную группу, которая может принимать участие в протонном обмене наряду с внутрициклическими группами NH, что представляет интерес с точки зрения сравнения этих групп по интенсивности участия в обменных процессах. Полученные ранее результаты^[14-18] показывают, что C₆D₆ хорошо подходит для изучения протонного обмена, поскольку является инертным, не имеет «кислых» атомов водорода и не разлагается с образованием сильных доноров протонов, что и обусловило выбор растворителя.

Эксперимент

Метилпиррофеофорбид *a* (1) получен согласно.^[19] Метилламид хлорина *e*₆ (2) получен согласно.^[20] Этанолламид (3) получен согласно.^[21] Спектральные характеристики (данные ЯМР ¹H, электронной (UV-Vis) спектроскопии, а также масс-спектрометрии) исследованных соединений совпадают с описанными ранее.^[14] Измерения выполнены на спектрометре Bruker Avance II (рабочая частота на ядрах ¹H 300 МГц). Спектры ЯМР ¹H и EXSY обрабатывались с использованием программы MestReNova 14.2.1-27684. Концентрация исследуемых соединений в C₆D₆ 0.005 - 0.010 ммоль/мл. Концентрация воды в C₆D₆ 0.01 ммоль/мл. Параметры эксперимента EXSY: стандартная импульсная программа **noesyph** фирмы Bruker, количество накоплений NS = 48, TD (F1) = 256, число точек дискретизации для каждого спектра TD(F2)=16384, время смешивания D8 варьировалось в интервале от 0.005 с до 0.025 с; релаксационная задержка D1 = 4 с (времена спин-решеточной релаксации для протонов воды и NH-протонов не превышают 1.6 с). Эксперименты проводились при стабилизации температуры (25 °C) и с использованием воздушной подушки для уменьшения влияния внешних вибраций. Скорость потока воздуха в термостате 670 л/ч.

Результаты и обсуждение

Метод NOESY используется не только для определения расстояний между протонами, но и для исследования протонного обмена (EXSY), причем в последнем случае можно зафиксировать, между какими группами атомов в молекуле происходит обмен.^[10-13] Для соединений 1 и 2 наблюдается обмен внутрициклических протонов NH с молекулами воды, а также обмен между группами NH порфиринового макроцикла. В соединении 3 имеется спиртовая гидроксильная группа, которая также участвует в обмене как с молекулой воды, так и с внутрициклическими группами NH (Рисунок 2). Обменные процессы, о которых можно судить на основании спектров EXSY, представлены на Схемах 1 и 2. Пример спектра EXSY приведен на Рисунок 2.

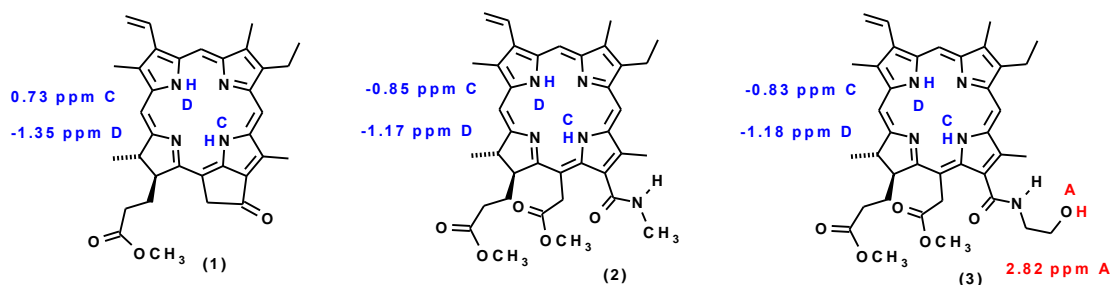


Рисунок 1. Структуры исследованных производных хлорофилла *a* и химические сдвиги сигналов протонов, участвующих в обмене.

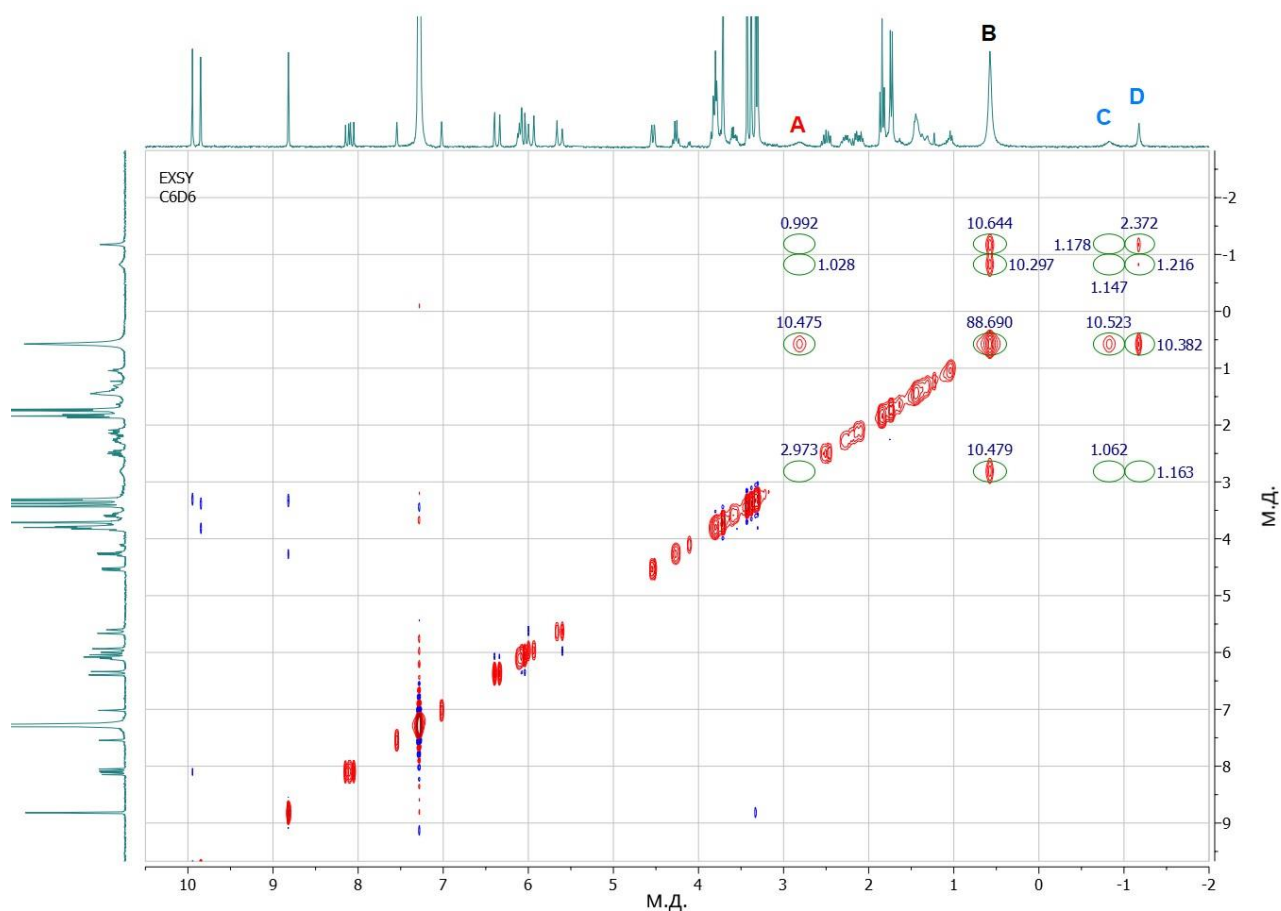


Рисунок 2. Спектр EXSY соединения **3** для времени смешивания $t_m = 0.4$ с (A – сигнал протона гидроксильной группы, B – сигнал протонов воды, C – сигнал протона NH(III), D – сигнал протона NH(I), обозначения на структурах см. Рисунок 1).

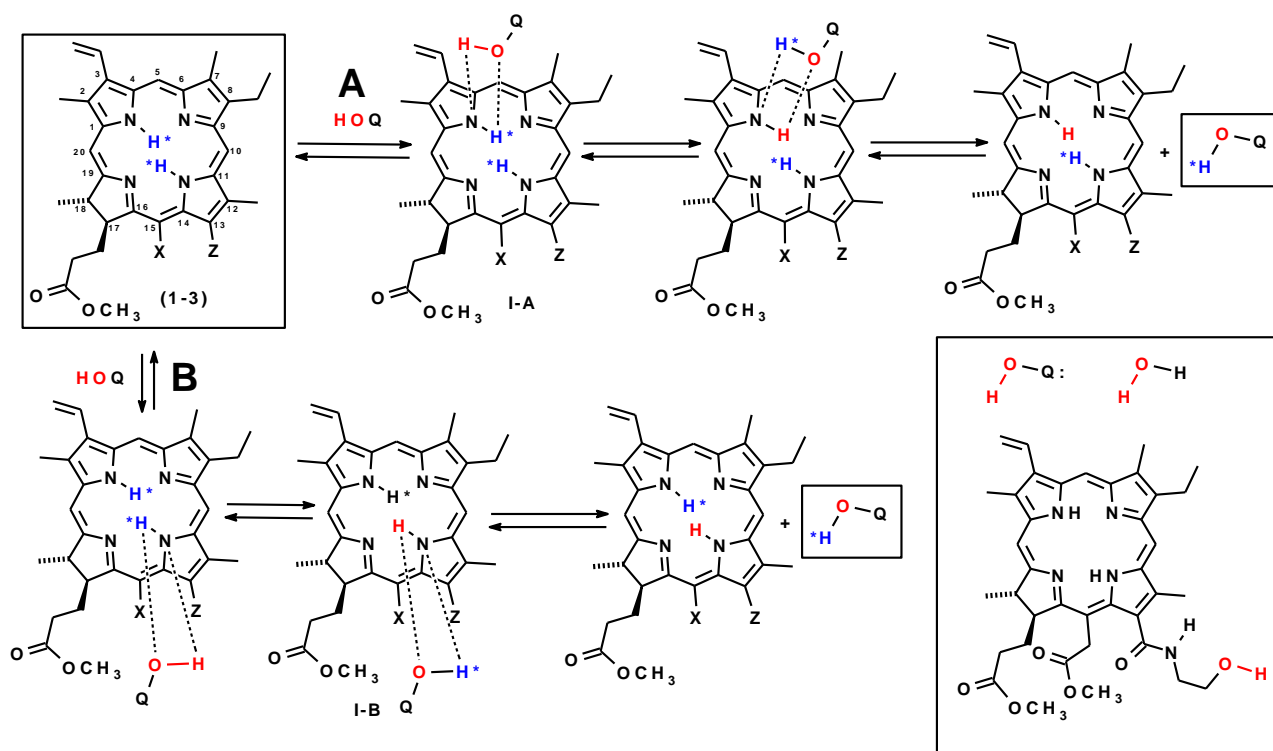


Схема 1.

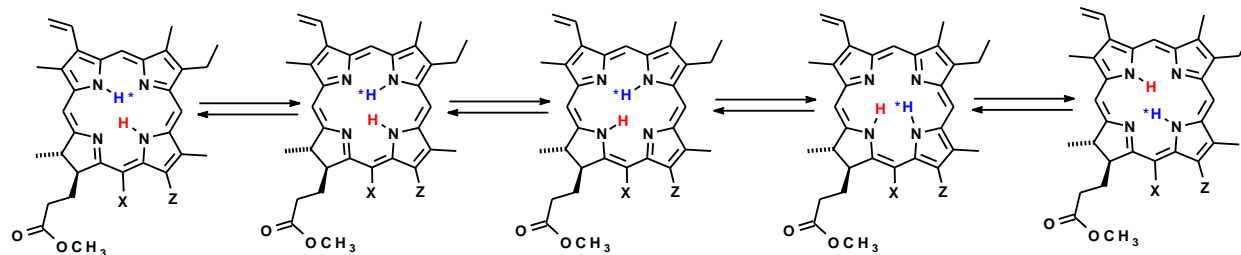


Схема 2.

Таблица 1. Характеристики обменных процессов, полученные методами EXSY и DOSY.^[14]

Соединения	k_{AB}, c^{-1}	k_{AC}, c^{-1}	k_{AD}, c^{-1}	k_{BC}, c^{-1}	k_{CD}, c^{-1}	k_{BD}, c^{-1}	$k_{NH(I)}, c^{-1}$	$k_{NH(III)}, c^{-1}$	k_w, c^{-1}
1	-	-	-	64 ± 6	5.3 ± 0.5	0.74 ± 0.14	0.64 ± 0.05	16 ± 6	12 ± 4
2	-	-	-	96 ± 4	46 ± 5	2.26 ± 0.09	1.63 ± 0.09	11 ± 5	25 ± 11
3	83 ± 5	95 ± 8	4.6 ± 1.0	74 ± 5	50 ± 5	3.4 ± 0.4	1.9 ± 0.2	13 ± 4	22 ± 7

k_{AB} – константа обмена между гидроксильной группой (протон А, соединение 3) и молекулой воды (протон В); k_{AC} – константа обмена между гидроксильной группой (протон А, соединение 3) и внутрициклической группой III-NH (протон С, соединение 3); k_{AD} – константа обмена между гидроксильной группой (протон А, соединение 3) и внутрициклической группой I-NH (протон D, соединение 3); k_{BC} – константа обмена между внутрициклической группой III-NH (протон С, соединения 1-3) и молекулой воды (протон В); k_{CD} – константа обмена между внутрициклической группой III-NH (протон С, соединения 1-3) и внутрициклической группой I-NH (протон D, соединения 1-3) и молекулой воды (протон В); k_{BD} – константа обмена между внутрициклической группой I-NH (протон D, соединения 1-3) и молекулой воды (протон В); $k_{NH(I)}$ – константа скорости переноса протона с внутрициклических групп I-NH порфирина на молекулу воды;^[14] $k_{NH(III)}$ – константа скорости переноса протона с внутрициклических групп III-NH порфирина на молекулу воды;^[14] k_w – константа скорости переноса протона с молекулы воды на внутрициклические группы NH порфирина.^[14]

Количественной характеристикой интенсивности участия протона в обменных процессах может служить константа обмена, определенная методом EXSY (Таблица 1).

Константы скорости обмена k определялись в приближении начальных скоростей.^[10,11,22] Спектры EXSY измерялись для малых времен смешивания t_m : 0.005, 0.01, 0.015, 0.02 и 0.025 (с) (спектры приведены в Приложении). Согласно методу, предложенному в работах^[23-25] для каждого t_m вычислялась комбинация интегральных интенсивностей диагональных (I_{ii} , I_{jj}) и недиагональных (I_{ij} , I_{ji}) кросс-пиков обменивающихся протонов i и j в спектре EXSY:

$$\alpha_{ij}(t_m) = \frac{I_{ij}}{2 \cdot X_j \cdot I_{ii}} + \frac{I_{ji}}{2 \cdot X_i \cdot I_{jj}} \quad (1)$$

В приближении начальных скоростей, когда $k \cdot t_m \ll 1$, можно пренебречь влиянием спин-решеточной релаксации. Как экспериментально показано в работе,^[15] вклад кросс-релаксации для данного случая также пренебрежимо мал. Подставляя в (1) выражения для интегралов I_{ii} , I_{jj} и I_{ij} , I_{ji} для двухстороннего обмена из работы^[10], при условии $k \cdot t_m \ll 1$, имеем для $a_{ij}(t_m) \approx k \cdot t_m$, т.е. выражение (1) представляет собой линейную зависимость $a_{ij}(t_m)$, тангенс угла наклона которой численно равен константе «квази-первого» порядка для скорости протонного обмена k_{ij} между протонами i и j (индексы i , j принимают значения А, В, С и D, соответствующие линиям протонных спектров образцов 1, 2, 3 в Приложении).

Для всех соединений: $k_{BC} > k_{CD} > k_{BD}$. Полученные результаты можно объяснить следующим образом. Во-

первых, протон NH(D) в наименьшей степени участвует в обмене с водой и, следовательно, в образовании межмолекулярных водородных связей с ней. Во-вторых, поскольку $k_{CD} > k_{BD}$, обмен между внутрициклическими протонами NH должен происходить напрямую. Опосредованный обмен через молекулы воды реализуется при условии $k_{CD} < k_{BD}$. Очевидно, что в таком случае скорость обмена между группами NH(C) и NH(D) лимитировалась бы скоростью обмена с водой. Дополнительная OH-группа в соединении 3 на эти процессы практически не влияет. Тенденции, отмеченные для обмена внутрициклических протонов NH с молекулами воды, полностью повторяются в случае обмена внутрициклических протонов NH с гидроксильной группой в соединении 3: $k_{AC} > k_{CD} > k_{AD}$. Это дает основания предполагать, что обмен внутрициклических протонов NH с гидроксильной группой является межмолекулярным и происходит аналогично обмену протонов NH с молекулами воды. Поскольку для соединения 3 $k_{BC} < k_{AC}$, обмен протона NH(C) с гидроксильной группой происходит напрямую. В то же время, для 3 $k_{AD} \approx k_{BD}$, поэтому не исключено, что обмен протона NH(D) с гидроксильной группой происходит не только напрямую, но и через молекулу воды. Интересно, что протон NH(D), в отличие от протона NH(C), участвует в обмене с молекулами воды с той же интенсивностью, что и протон гидроксильной группы. Это, возможно, связано с сопоставимым по прочности межмолекулярным взаимодействиям внутрициклических протонов NH и гидроксильной группы: несмотря на большую пространственную доступность группы OH, у внутрициклических групп NH имеется больше возможностей для образования

водородной связи, что и усиливает межмолекулярное взаимодействие.^[16] Разница в интенсивности обмена внутрициклических протонов NH(C) и NH(D) обусловлена, во всей видимости, разной степенью участия этих протонов в образовании межмолекулярных водородных связей. Электроноакцепторные группы в пиррольном кольце III приводят к поляризации связи N-H в этом фрагменте, что способствует образованию водородной связи.

Полученные ранее константы переноса протона по данным DOSY (Таблица^[14]) дают аналогичную картину относительной интенсивности участия протонов NH(C) и NH(D) в обмене. Для всех соединений значение константы переноса протона с молекулы воды на порфирин (k_w), совпадает в пределах погрешности с константой переноса протона с группы NH(III) порфирина на молекулу воды ($k_{NH(III)}$), что соответствует обратимому процессу, происходящему с промежуточным образованием ассоциата с водой иминной группы пиррольного кольца III макроцикла. Следовательно, протон NH(C) наиболее интенсивно участвует в обменных процессах и основной путь переноса протона с порфирина на молекулу воды связан с обменом NH(C).^[14]

Заключение

Методом EXSY изучены обменные процессы с участием производных хлорофилла *a* (Рисунок 1) в среде C₆D₆. Установлено, что по интенсивности участия в межмолекулярных обменных процессах два внутрициклических протона NH существенно различаются между собой, более активной является группа NH пиррольного кольца III, что, по всей видимости, связано с большей полярностью связи N-H, обусловленной электроноакцепторными заместителями в этом кольце. Показано, что, помимо межмолекулярного протонного обмена, происходит обмен непосредственно между внутрициклическими группами NH.

Благодарности. Спектральные данные получены при помощи оборудования ЦКП «Химия» Института химии Коми НЦ УрО РАН (г. Сыктывкар). Работа выполнена в рамках государственных заданий Института химии ФИЦ Коми научного центра Уральского отделения РАН (Сыктывкар) № 122040600073-3.

References

Список литературы

- Yang J., Wang Z., Hu K., Li Y., Feng J., Shi J., Gu J. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2015**, *7*, 11956–11964. DOI: 10.1021/acsami.5b01946.
- Kielmann M., Senge M.O. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2019**, *58*, 418–441. DOI: 10.1002/anie.201806281.
- Hikal W.M., James Harmon H. *J. Hazard. Mater.* **2008**, *154*, 826–831. DOI:10.1016/j.jhazmat.2007.10.098.
- Thomas K. E., McCormick L.J., Vazquez-Lima H., Ghosh A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, *56*, 10088–10092. DOI: 10.1002/anie.201701965.
- Udal'tsov A.V., Kazarin L.A., Sinani V.A., Sweshnikov A.A. *J. Photochem. Photobiol. A* **2002**, *151*, 105–119. DOI: 10.1016/S1010-6030(02)00145-4.
- Yang J., Wang Z., Hu K., Li Y., Feng J., Shi J., Gu J. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2015**, *7*, 11956–11964. DOI: 10.1021/acsami.5b01946.
- Busschaert N., Caltagirone C., Van Rossom W., Gale Ph. A. *Chem. Rev.* **2015**, *115*, 8038–8155. DOI: 10.1021/acs.chemrev.5b00099.
- Berezin D.B. *Macrocyclic Effect and Structural Chemistry of Porphyrins*. Moscow: Krasand. **2010** [Березин Д.Б. *Макроциклический эффект и структурная химия порфиринов*. М.: Крассанд, **2010**, 424 с.].
- Morris K.F., Johnson C.S. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 3139–3141. DOI: 10.1021/ja00034a071.
- Jeener J., Meier B.H., Bachmann P., Ernst R.R. *J. Chem. Phys.* **1979**, *71*, 4546–4553. DOI: 10.1063/1.438208.
- Ernst R.R., Bodenhausen G., Wokaun A. *Principles of Nuclear Magnetic Resonance in One and Two Dimensions*. Oxford University Press: Oxford, England, **1987** [Эрнст Р., Боденхаузен Дж., Вокаун А. *ЯМР в одном и двух измерениях*. Пер. с англ. М: Мир, **1990**. 711 с.].
- Cabrita E.J., Berger S. *Magn. Reson. Chem.* **2002**, *40*, 122–127. DOI: 10.1002/mrc.1082.
- Brand T., Cabrita E.J., Morris G.A., Günther R., Hofmann H.-J., Berger S. *J. Magn. Reson.* **2007**, *187(1)*, 97–104. DOI: 10.1016/j.jmr.2007.03.021.
- Belykh D.V., Stolypko A.L. *Macroheterocycles* **2019**, *12*, 392–397. DOI: 10.6060/mhc190444b.
- Stolypko A.L., Belykh D.V. *Macroheterocycles* **2021**, *14*, 147–152. DOI: 10.6060/mhc210129b.
- Belykh D.V., Stolypko A.L. *Macroheterocycles* **2021**, *14*, 209–213. DOI: 10.6060/mhc213945b.
- Stolypko A.L., Belykh D.V. *Macroheterocycles* **2019**, *12*, 398–402. DOI: 10.6060/mhc191280b.
- Stolypko A.L., Belykh D.V. *Macroheterocycles* **2018**, *11*, 383–389. DOI: 10.6060/mhc180689b.
- The Porphyrins: Structure, Properties, Synthesis* (Enikoloryan N.S., Ed.), Moscow: Nauka, **1985** [Порфирины: структура, свойства, синтез (Ениколопян Н.С., ред.), М.: Наука, **1985**. 334 с.].
- Ellsworth P.A., Storm C.B. *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 281–283. DOI: 10.1021/jo00396a022.
- Belykh D.V., Karmanova L.P., Spirikhin L.V., Kuchin A.V. *Russ. J. Org. Chem.* **2007**, *43*, 126–134. DOI: 10.1134/S1070428007010174.
- Macura S., Wuthrich K., Ernst R.R. *J. Magn. Reson.* **1982**, *46*, 269–282. DOI: 10.1016/0022-2364(82)90142-1.
- Macura S., Farmer II B.T., Brown L.R. *J. Mag. Reson.* **1986**, *70*, 493–499. DOI: 10.1016/0022-2364(86)90143-5.
- Gadiev T.A., Khairutdinov B.I., Antipin I.S., Klochkov V.V. *Appl. Magn. Reson.* **2006**, *30*, 165–173. DOI: 10.1007/BF03166716.
- Khodov I.A., Nikiforov M.Yu., Alper G.A., Blokhin D.S., Efimov S.V., Klochkov V.V., Georgi N. *J. Mol. Struct.* **2013**, *1035*, 358–362. DOI: 10.1016/j.molstruc.2012.11.040.

Received 26.12.2022

Accepted 02.02.2023