

ПУТИ И МЕТОДЫ ПОЛУЧЕНИЯ ПОРФИРИНОВ

<https://doi.org/10.5281/zenodo.10065459>

Холмуродова Д.К.

Самаркандский Государственный медицинский университет, Самарканд,
Узбекистан

Аннотация

Данная статья посвящена методам выделения природных порфиринов из природного сырья и возможностям их структурной модификации.

Ключевые слова

Порфирин, Металлопорфирин, фталоцианины, протопорфирин, бактериохлороиллы, хлорелла, алломеризация, каротиноиды, феофитин.

Abstract

This paper is devoted to methods for isolating natural porphyrins from natural raw materials and the possibilities of their structural modification.

Keywords

Porphyrin, metalloporphrin, phthalocyanines, protoporphyrin, bacteriochlorophylls, chlorella, allomerization, carotenoids, pheophytin.

Известно что порфирины и металлопорфирины соединения, обладающие рядом уникальных свойств.

Именно эти свойства обуславливают интерес к исследованию порфиринов и металлопорфиринов, который включают широкий круг вопросов: выяснение роли порфиринов, входящих в состав сложных белковых комплексов [1], раскрытие путей биосинтеза хлорофилла и гема [2-5], создание на основе порфиринов катализаторов химических и ферментативных процессов [4-1]), использование их в качестве лекарственных препаратов, полупроводников и т.д., [1].

Для успешного развития этих и других научных направлений необходимо методы их получения которые возлагается на химиков-синтетиков. В настоящее время наиболее доступными из порфиринов и их аналогов являются фталоцианины, тетрафенилпорфины и тетрабензопорфины, которые можно считать важнейшими синтетическими порфиринами. Однако, за исключением фталоцианинов, все перечисленные соединения редко используются более чем в граммовых количествах, так как

они сравнительно дороги и дефицитны. Отдельные отрасли техники уже сейчас требуют килограммовых количеств комплексов порфиринов.

Прежде всего это хлорофилл-зеленый пигмент растений, с помощью которого растения улавливают световую энергию и осуществляют фотосинтез; гем- красящее вещество крови, транспортирующее в составе гемоглобина кислород к тканям организма; Весьма важно, что структурное многообразие порфиринов, содержащихся в природных источниках, достаточно велико. Выделение ряда порфиринов из природных объектов может быть менее трудоемким и более экономичным, чем прямой синтез(например, порфирины группы хлорофилла, протопорфирина и т.д.). Кроме того, из перечисленных порфиринов путем сравнительно несложных превращений можно получить их структурные аналоги.

В данной статье собраны сведения об основных источниках и содержании в них порфиринов, о наиболее общих способах выделения основных порфиринов из природного сырья и о возможностях их структурной модификации.

ХЛОРОФИЛЛСОДЕРЖАЩИЕ ИСТОЧНИКИ

Одним из наиболее доступных природных источников порфиринов может быть хлорофилл, получают в основном из листьев крапивы или шпината.

Высшие растения и зеленые водоросли содержат хлорофилл *a* (1), и хлорофилл *b* (2), бурые и диатомовые водоросли – хлорофилл *a*, хлорофилл *c*₁ (3) и хлорофилл *c*₂ (4), красные водоросли – хлорофиллы *a* и *b* (5). В пурпурных фотосинтезирующих бактериях находятся близкие аналоги хлорофиллов – бактериохлорофиллы (6, 7) и «chlorobium» хлорофиллы.

По данным, Рабиновича [1], суммарное содержание хлорофиллов *a* и *b* в наземных растениях в расчете на сухой вес зеленого объекта колеблется от 0,7 до 1,3%. В зеленых водорослях содержание хлорофилла близко к его содержанию у высших растений и составляет 0,5–1,5% [1]. Хлорелла содержит 4–5% хлорофилла в расчете на сухой вес [1].

Из растительного сырья, кроме хлорофиллов, выделено большое число продуктов их превращений, образовавшихся в результате ферментативных и неферментативных превращений [2-4].

В работе [2] подробно описаны принципы подбора растворителей для экстракции хлорофиллов, на которых, по нашему мнению, следует кратко остановиться.

Растворитель для экстракции должен выбираться в соответствии с характером растительного сырья, с учетом его влияния на хлорофиллы, а также с учетом дальнейшего использования экстракта (количественное определение, хроматография, получение структурных или металлоаналогов). Наиболее подходящие растворители для экстракции хлорофиллов из свежих листьев – это растворители, смещивающиеся с водой (метанол, этанол, ацетон, пиридин, диметилсульфоксид), а также смеси метанол- петролейный эфир (или диэтиловый эфир) [2-4]. Перечисленные растворители обладают рядом достоинств и недостатков, что следует учитывать при их выборе. В ацетоне, например, хлорофиллы устойчивы, однако он является менее эффективным экстрагентом из свежего растительного сырья. В противоположность ацетону метанол и этанол лучше экстрагируют хлорофиллы, однако в спиртах возможна их алломеризация [3]. По мнению авторов работы [2-4], лучшими экстракционными свойствами обладает смешанный бинарный растворитель метанол-петролейный эфир (т. кип. 20-40° С), взятый в объемном соотношении 2:1. Метанол поглощает воду из свежего растительного сырья, а петролейный эфир быстро экстрагирует хлорофиллы. Кроме того, бинарный растворитель более эффективно сольватирует сложные молекулы типа хлорофилла.

Большое значение имеет соотношение объемов растворителя и свежего растительного сырья. Оптимальное соотношение составляет 30:1, так как содержание воды в сырье достигает 90 % [2-4]. Избыток растворителя приводит к быстрой экстракции, что значительно уменьшает возможность протекания побочных нежелательных процессов. Экстракцию желательно проводить в малоосвещенных помещениях и в инертной атмосфере [2-4].

Для быстрой количественной экстракции хлорофиллов в работе [2-4] рекомендуется следующий метод: несколько граммов свежего растительного сырья смешивают в охлажденном смесителе в течение нескольких минут с 20-кратным (по весу) количеством ацетона, метанола или смеси метанол-петролейный эфир (2:1). Смесь фильтруют или центрифугируют с последующей декантацией экстракта. Растительное сырье повторно экстрагируют, центрифугируют и экстракты объединяют.

Необходимым условием для использования этих уравнений, приведенных в является точное знание молярных коэффициентов погашения, полученных для чистых сухих пигментов [3-6].

Из растительного сырья, кроме хлорофиллов, выделено большое число продуктов их превращений, образовавшихся в результате ферментативных и неферментативных превращений [2-6,2-7].

Мы не ставили своей задачей описание изменений, происходящих с хлорофиллами. Это достаточно детально сделано в обзорах [2-4,2-5] и цитированной в них литературе. Необходимо учитывать, что при целевом выделении хлорофиллов обращаться с хлорофиллсодержащим сырьем следует чрезвычайно осторожно.

ВЫДЕЛЕНИЯ ТУТОВОГО ШЕЛКОПРЯДА КАК ИСТОЧНИК ХЛОРОФИЛЛА (ВТШ)

Поэтому нами было предложено дешевый, удобный и практически неограниченным источником хлорофилла и порфиринов на его основе в нашей стране могут быть выделения тутового шелкопряда (ВТШ), накапливающиеся в огромных количествах при вскармливании гусеницы тутового шелкопряда листьями тутовника (шелковицы) [4].

Расчеты показывают, что при 50%-ном использовании ВТШ только в нашей республике можно получить до 2000 т хлорофилла в год.

Гусеничная стадия развития тутового шелкопряда в условиях Узбекистана длится всего один месяц (май) и делится на пять этапов (возрастов гусеницы). На гусеничной стадии происходит подкормка гусениц листьями тутового дерева и накопление ВТШ. Поедая листья, гусеница в пищеварительном тракте концентрирует хлорофилл, и его содержание в ВТШ повышается по сравнению с содержанием в зеленом листе почти вдвое. Сырые ВТШ при сборе следует очистить от остатков листьев, просеять и высушить в сухом темном месте на воздухе при 25–35° С. Время сушки 3–4 дня. Хранить ВТШ необходимо в сухом темном помещении. Из табл. 1 следует, что в зависимости от возраста гусеницы в ВТШ изменяется не только содержание суммы хлорофиллов *a* и *b*, но и их соотношение.

Таблица 1. Содержание хлорофиллов в ВТШ в зависимости от возраста гусеницы

Возраст гусеницы	Содержание хлорофилла в ВТШ, вес. %	Соотношение компонентов a/b	Органическое вещество, %	Неорганическое вещество, %
Третий	4,22	1:1	88,6	11,4
Четвертый	4,25	1:2	87,6	12,4
Пятый	2,13	1:1,4	88,2	11,8

Лист шелковицы	1,90	3:1	90,6	9,4
-------------------	------	-----	------	-----

Наиболее богатыми хлорофиллом являются ВТШ у гусениц третьего и четвертого возрастов. Спектральные исследования показали, что хлорофиллы *a* и *b*, а также феофитины *a* и *b* (см. формулы 11 и 12, в разделе 1), выделенные из листьев крапивы, тутовника и ВТШ, идентичны [4].

Наряду с хлорофиллом ВТШ содержат много различных по природе органических веществ, которые тоже могут найти применение. Среди них каротиноиды, которые отделяются при хроматографии или при центрифугировании спиртового раствора феофитина, а также ксантофиллы, белки, сапонины, флавоноиды и др. Среди неорганических веществ атомпо- абсорбционным методом обнаружены (в % в расчете на воздушно-сухую массу ВТШ): Cd (3,0), Mg (3,14), K (0,96), Na ($2 \cdot 10^{-2}$), Zn ($4 \cdot 10^{-2}$), Cu ($7 \cdot 10^{-3}$), V ($3 \cdot 10^{-3}$), Cr ($3 \cdot 10^{-3}$), Sb ($2 \cdot 10^{-3}$), а также Ag, Mo, Pd, Ni, Bi.

Наибольший интерес ВТШ представляют как источник хлорофилла и порфиринов, которые можно затем получить на его основе. Для извлечения хлорофилла из ВТШ лучшими экстрагентами являются метанол и этанол (выход до 4%), ацетон (выход до 2%). Плохо извлекается хлорофилл хлороформом, бензолом, толуолом, четырех хлористым углеродом и петролейным эфиром [4].

Извлечение хлорофилла этанолом проводится следующим образом. Небольшое количество ВТШ, измельченное до порошкообразного состояния, засыпают в две стеклянные колонки длиной 120 см, диаметром 20–25 мм. Одну из них заливают этанолом и настаивают в течение 2–3 час. Затем раствор хлорофилла и.ч первой колонки отсасывают, заливают во вторую колонку и операцию повторяют. Из этанольного раствора хлорофилла при действии 2н. HCl осаждают феофитин (*a+b*), который отделяют от раствора центрифугированием (6000 об/мин) [4]. Разделение феофитина на *a*- и *b*-компоненты проводится с я хроматографически и описано далее. Феофитин *a* и *b* могут затем перерабатываться в металлоаналоги хлорофилла, а также в порфирины группы хлорофилла.

Разработан способ получения металлоаналогов хлорофилла (*a+b*) непосредственно из ВТШ и солей металлов [5].

К насыщенному раствору соли переходного металла в 80–100%-ной уксусной кислоте при 50–60° С добавляется ВТШ (или другой источник хлорофилла) и смесь выдерживается 20–60 мин. (в зависимости от

применяемой соли металла). После охлаждения и фильтрации раствора из него извлекается металло- комплекс (Cu^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Zn^{2+}) с помощью эфира. Эфирный экстракт отмывается от уксусной кислоты и соли металла водой и упаривается.

В табл. 2 приведены ЭСП металлоаналогов хлорофилла *a* и *b*. Эти спектры соответствуют литературным данным [4-5]. для металлокомплексов, полученных из феофитинов *a* и *b*, выделенных по общепринятым методикам из листьев крапивы.

Феофитин (*a* + *b*), полученный из ВТШ, без разделения на компоненты *a* и *b* был использован для синтеза некоторых порфиринов группы хлорофилла [4].

Таблица 2. Электронные спектры поглощения металлокомплексов , феофитинов Ni, Cu и Zn в ледяной НАс, полученных из ВТШ

Компл екс	Положение (λ , нм) и интенсивность * ($\lg \epsilon$) полос поглощения				
	I	II	III	IV	V
NiXл <i>a</i>	649 (4,50)	605 (4.01)	548 (3.55)	435 (3.46)	409 (4.66)
CuXл <i>a</i>	651 (4,58)	610 (3.96)	550 (3.55)	502 (3.53)	412 (4.78)
Zn Xл <i>a</i>	660 (4,71)	615 (4.05)	570 (3.76)	520 (3.59)	427 (4.34)
Ni Xл <i>b</i>	624 (4,46)	602 (4.01)	520 (3.45)	454 (3.44)	402 (4.57)
Cu Xл <i>b</i>	626 (4,26)	592 (3.89)	523 (3.70)	433 (4.78)	--
Zn Xл <i>b</i>	641 (4,32)	605 (3.86)	570 (3.79)	536 (3.67)	452 (4.76)

СПОСОБЫ МОДИФИКАЦИИ ХЛОРОФИЛЛА.

МЕТОДИКИ ПОЛУЧЕНИЯ ВАЖНЕЙШИХ СТРУКТУРНЫХ АНАЛОГОВ ХЛОРОФИЛЛА

Хлорофилл (1, 2) обладает многочисленными функциональными группировками, способными в определенных условиях к изменению при действии различных химических реагентов. При установлении строения хлорофилла Фишер получил свыше 600 его структурных и металлоаналогов, описанных в

его классической монографии [6], ставшей, к сожалению, библиографической редкостью. Многие из структурных аналогов хлорофилла неустойчивы и не имеют существенного значения.

Большой практический интерес представляют соединения, изображенные на схеме 1. Получение некоторых из них будет рассмотрено подробнее.

Структурная модификация хлорофилла возможна вследствие чрезвычайной устойчивости порфиринового макрокольца в кислых и щелочных средах. Благодаря этому свойству макрокольца становится возможным проведение химических превращений на периферии молекулы.

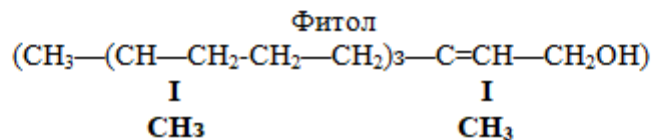
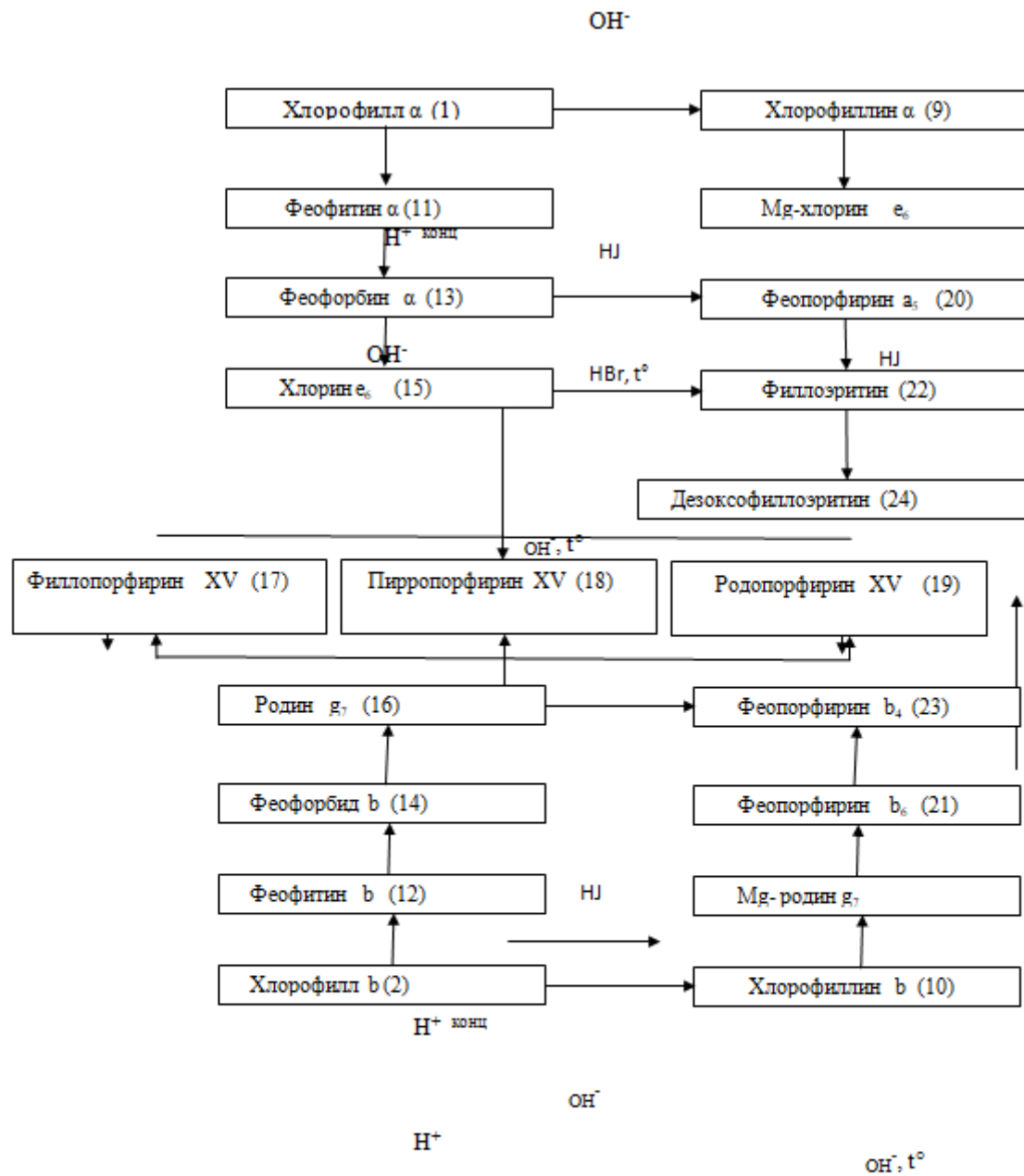
Исходные хлорофиллы (*a* и *b*) могут подвергаться щелочной и кислотной обработке.

Следует отметить, что из хлорофилла *a* получают структурные аналоги α -ряда, а из хлорофилла *b* – аналоги β -ряда. В определенных условиях структурная модификация этих двух хлорофиллов приводит к одним и тем же конечным соединениям. Это обстоятельство позволяет использовать смесь хлорофиллов *a* и *b* для синтеза таких порфиринов без их предварительного разделения.

При щелочной обработке хлорофиллов на холоду атом магния сохраняется в молекуле, но при этом происходит гидролиз фитилпропионатного остатка в положении 7 макрокольца и метилкарбоксилатного остатка в положении 10 изоцикла с образованием хлорофиллинов. [2]. и примесью магний-хлорина e_6 и магний-родина g_7 (15, 16) [2].

При быстром щелочном омылении при повышенной температуре образуются трикалиевые (или тринатриевые) соли магний-хлорина e_6 и магний-родина g_7 . Это – водорастворимые порфирины, представляющие в связи с этим определенный интерес.

Кислотная обработка хлорофилла приводит к удалению атома магния из координационного центра молекулы с образованием феофитина (11, 12). Воздействие на хлорофилл или феофитин концентрированной соляной кислоты вызывает гидролиз фитилпропионатного остатка. При этом происходит отщепление фитола и образование феофорбида (13, 14).



представляет собой мононенасыщенный спирт, изопреноид. Он имеет большое практическое значение в связи с тем, что является одним из основных исходных веществ для синтеза витаминов E и K1.

Отрыв фитола приводит к появлению в молекуле феофорбида (13, 14) алкилкарбоксовой группы. Эта группа может быть этерифицирована

метанолом (этанолом или другим спиртом) с образованием метилфеофорбида (алкилфеофорбида). Эфиры могут быть очищены хроматографически и в результате выделяют алкилфеофорбиды в кристаллическом виде. Для неэтерифицированных порфиринов используется кислотно-эфирное разделение [6].

Обработка феофорбида (или феофитина) раствором 30%-ной щелочи в метаноле приводит к раскрытию изоцикла V с образованием хлорина e6 (15) или родина g7 (16) [6], представляющих собой трикарбоновые кислоты частично восстановленного порфирина.

Хлорин e1 (15) в 30%-ном щелочном метанольном растворе при 150° С декарбоксилируется и через последовательно о образование промежуточных порфиринов – хлорина e4 (25) и филлохлорина (26) – переходит в филлопорфирин XV (17). В этих же условиях через образование родохлорина (27) получают родопорфирин XV (19) и пирропорфирин XV (18) [7]. Получение в качестве конечных продуктов порфиринов 17–19 при использовании соединений b-ряда свидетельствует о том, что в жестких условиях синтеза формильная группа в положении 3 восстанавливается до метильной.

Пирропорфирин, родопорфирин и филлопорфирин являются устойчивыми соединениями и представляют существенный научный и практический интерес [6, 5, 7].

При действии на феофорбиды a и b (13, 14) иодистоводородной кислоты [6] или при каталитическом гидрировании на палладии [4] образуются феопорфирин a5 (20) и феопорфирин b6 (21). Декарбоксилирование этих соединений приводит к филлоэритрину (22) и феопорфирину b4 (23).

ВЫВОДЫ

Таким образом в результате наших исследования доказано что ВТШ является естественным источником природных хлорариллов и их металлокомплексов которые могут быть использованы в народном хозяйстве и медицине.

ЛИТЕРАТУРА:

- 1 Койфман О.И., Аскарлов К.А., Березин Б.Д., Еникопьян Н.С., Порфирины структура свойства синтез Москва «наука» 1985 г

2. Аскарлов К.А, Агеева Т.А, Рашидова С.Т. Отходы шелководства. Пути их переработки, перспективы применения. Подред. О.И, Койфмана. М. Химия 2008,
3. The Porphyrin Handbook. / Ed. K.M. Kadish, K.M. Smith, R. Guilard. Acad. press: N.Y. 2000. Vol. 6.
4. Моисеева МюВю, Михайлец Г.А. применение производных хлорофилла и в медицине. / в кн. Изучение и применение лечебно – профилактических препаратов на основе природных биологически активных веществ. СПб: «Эскулап», 2000. С.80.
5. Миронов А.Ф. // Росс. Хим. Журнал. 1998. №5. С. 23.
6. Ломова Т.Н., Березин Б.Д. // Координац. Химия. 1993. Т. 19. №3. С. 171.
7. Некрасова В.Б., Никитина Т.В., Курныгина В.Т., Биологически активные вещества хвои сосны и ели их применение в медицине. / в кн. Изучение и применение лечебно – профилактических препаратов на основе природных биологически активных веществ. СПб: «Эскулап», 2000. С.92.
8. Kholmurodova D.K. Selection and substantiation of research objects for obtaining composite wood-plastic materials // RNTK Composite materials based on industrial waste and local raw materials: composition, properties and application, April 15-16, 2010. – P.28-29.
9. Аскарлов К.А., Холмуродова Д.К., Н.С.Тонгяриков “Пилла курти чикиндиларидан хлорофилл, металлопорфиринлар, биологик ва каталитик фаол моддалар олишнинг илмий асослари” Монография, 2014.
10. Бойдадаев М. Б. У., Холмуродова Д. К. Исследование зависимости физико-механических свойств композиционных древесно-пластиковых плитных материалов от содержания полимерного связующего при различной плотности // Universum: технические науки. – 2019. – №. 9 (66). – С. 31-35.
11. Киямова Д. Ш., Аскарлов К. А., Холмуродова Д. К. ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ НАПОЛНИТЕЛЕЙ НА ФИЗИКО-МЕХАНИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА УГОЛЬНЫХ БРИКЕТОВ // Universum: технические науки. – 2021. – №. 8-2. – С. 49-51.
12. Киямова Д. Ш., Холмуродова Д. К. РАЗРАБОТКА НАУЧНО-МЕТОДИЧЕСКИХ ПРИНЦИПОВ И ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ УГОЛЬНЫХ БРИКЕТОВ // Universum: технические науки. – 2022. – №. 4-8 (97). – С. 56-58.
13. Kholmurodova D. K., Kiyamova D. Sh. STUDY OF THE STRUCTURE, PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES OF THE SELECTED ORGANIC AND NON-ORGANIC INGREDIENTS ON THE BASIS OF LOCAL AND SECONDARY RAW

MATERIALS, AS RELATED TO THE DEVELOPMENT OF COAL BRIQUETTES
//Thematics Journal of Chemistry. – 2022. – Т. 6. – №. 1.

14. Раимкулова Ч. А., Холмуродова Д. К. РАЗРАБОТКА МЕТОДОВ И
УСТРОЙСТВ ДЛЯ НЕИНВАЗИВНОГО КОНТРОЛЯ НЕКОТОРЫХ
КЛИНИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫХ БИОМАРКЕРОВ //ЖУРНАЛ ГЕПАТО-
ГАСТРОЭНТЕРОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ. – 2022. – №. SI-2.