

对映 - 贝壳杉烯二萜分子内氢键对 6, 7 位羟基 化学反应性影响研究

沈晓羽 吴厚铭*

(中国科学院上海有机化学研究所生命有机化学国家重点实验室, 上海, 200032)

孙汉董

(中国科学院昆明植物研究所植物化学开放研究实验室, 昆明, 650204)

摘要: 对映 - 贝壳杉烯二萜分子在激烈条件下进行乙酰化反应, 反应发生在半缩醛羟基, 而非仲羟基上; 该反常现象的产生可能是由于 6 位仲羟基与 15 位羰基之间形成了分子内氢键, 本文根据¹H NMR 变温实验观察分子在不同温度时 6 位和 7 位羟基质子的化学位移变化值 $\Delta\delta/T(\text{Hz}\cdot\text{K}^{-1})$, 证明了上述假定。

关键词: 氢键, 对映 - 贝壳杉烯, 化学反应性, 二萜

对映 - 贝壳杉烯 (*ent* - kaurene) 二萜是富含在唇形科香茶菜 (*Rabdosia*) 属植物中的二次代谢产物^[1]。若分子中的 A 环, 或者 D 环上存在 α, β - 不饱和酮的部分结构, 该分子就显示出细胞毒活性^[1-3]。

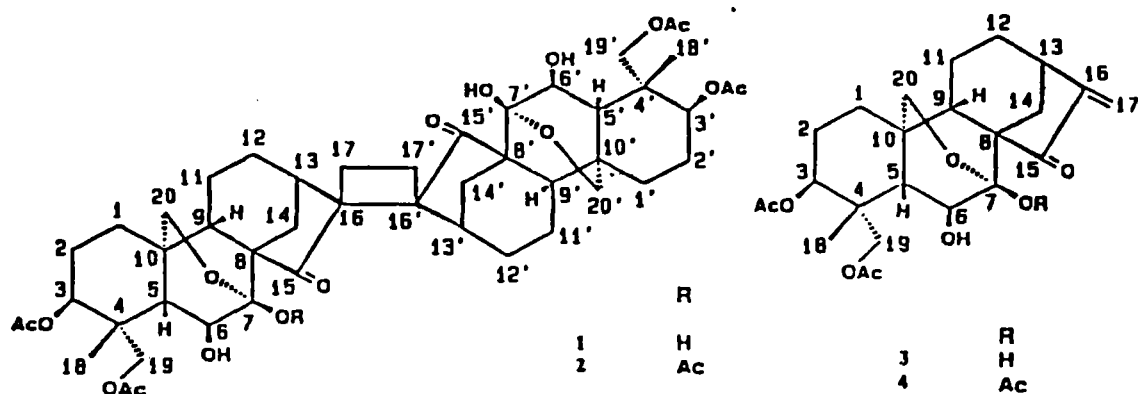
对毛萼香茶菜 (*Rabdosia eriocalyx* Hara) 中分离得到的一个具有 C₂ 对称轴的对映贝壳杉烯二聚体 maoecrystal M(**1**) 进行结构研究, 将其进行乙酰化反应, 破坏分子对称性时, 发现在剧烈反应条件下 (Ac₂O - Pyridine, 80°C, 10 小时), 得到单乙酰化物 (**2**), 分子 **2** 的饱和转移图谱确认了分子 **2** 中存在三个羟基的质子信号 (δ_{H} 6.63 和 6.88, 各 1H, d, 10.0Hz, 9.11, 1H, brs), 从分子 **2** 的 DQF - COSY 谱图中, 观察到羟基质子信号 (δ_{H} 6.63 和 6.88) 与 6 位和 6' 位质子信号 (δ_{H} 5.67 和 4.37, 各 1H, dd, 10.06.0Hz) 有交叉峰, 从而确认 6 位和 6' 位羟基没有被乙酰化。为了弄清反应不发生在仲羟基, 而发生在叔羟基上的反常现象, 将化合物 maoecrystal J (**3**) 在上述反应条件下进行乙酰化, 其结果仍然是 C - 7 位上的半缩醛羟基被乙酰化^[4]。造成反常现象的原因可能是 6 位羟基和 15 位羰基之间形成了稳定的氢键所致。为了证明上述假定, 我们对分子 **2** 和 **4** 进行¹H NMR 变温实验, 观察分子内羟基质子的 $\Delta\delta/T$ 变化情况。

1 实验

化合物 **1** 和 **3** 从毛萼茶菜的甲醇抽提物中经硅胶柱层析和重结晶得到。化合物 **2** 和 **4** 分别由化合物 **1** 和 **3**, 经乙酰化反应 (Ac₂O - Pyridine, 80°C, 10h), 并纯化后备用。样品分别溶于 0.5mL pyridine - d₅ 中得到浓度分别为 6mg·mL⁻¹ (**2**) 和 10mg·mL⁻¹ (**3**) 的溶液; 实验在 JEOL JNM - 500 型 NMR 谱仪上进行; 溶剂作为内标, 化合物 **3** 的分子模型化 (Molecular modeling) 使用 HyperChemTM (Release 3) 软件在 AST DX486 50/33 微机上作成。分子 **3** 的平面结构转变为三维原始结构后, 选用 MM + 分子力场, 对该原始结构进行能量优化而得到初始结构。在初始结构中加入 NOE 距离约束条件 (每对质子间距离均为 0.3nm) 后^[5], 进行限制型能量优化; 优化过程中, NOE

1995 - 08 - 22 收稿。

本工作得到中国博士后科学基金的部分资助。



距离约束力常数 Fr 设置为 $30\text{kcal}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot 0.1\text{nm}^{-1}$, 采用 Polak - Ribiere 算法, 计算终止条件 (RMS gradient) 设置为 $0.1\text{kcal}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot 0.1\text{nm}^{-1}$, 进行能量优化, 其结果是使低能量分子模型与 NOESY 谱图的 NOE 最大程度的吻合。

2 结果与讨论

测定分子 2 和 3 在 300K , 317K 和 327K 时的 ^1H NMR 谱图。由图 1 可见: 分子 2 和 3 中羟基质子的化学位移值随着实验温度升高而向高场移动。

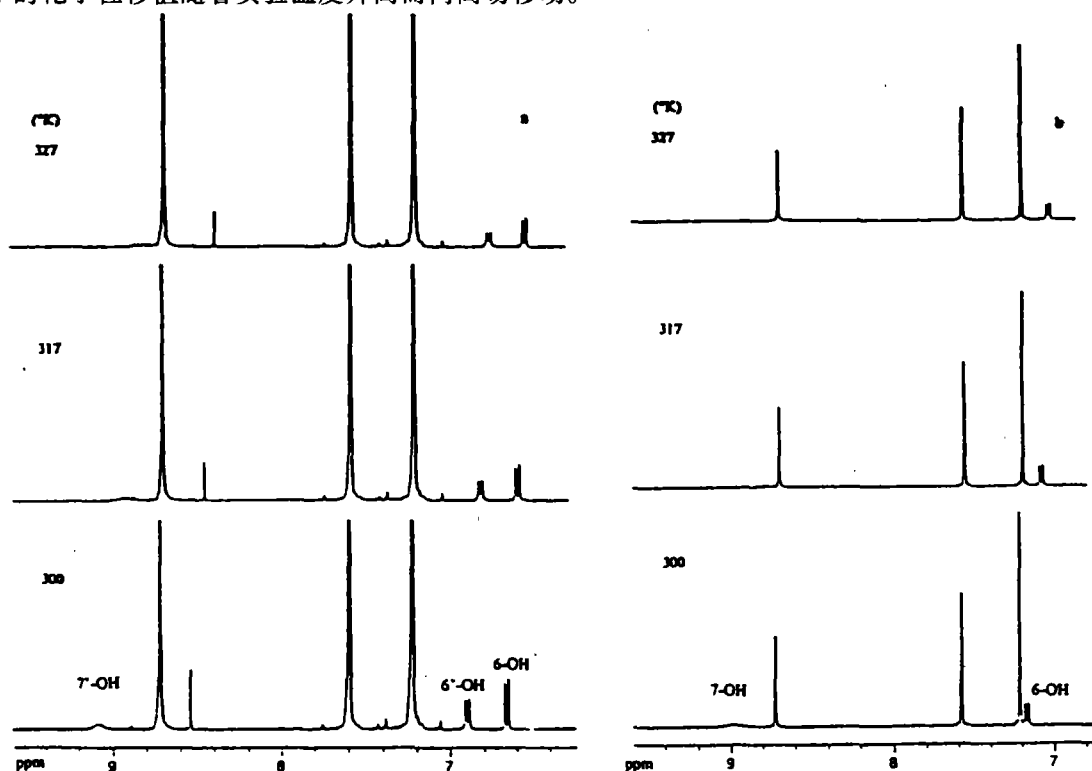


图 1 分子 2(a, 6.4~9.4ppm) 和 3(b, 7.0~9.4ppm) Pyridine- d_5 中的 ^1H NMR 谱图

Fig. 1 ^1H NMR spectra of 2(a, 6.4~9.4ppm) and 3(7.0~9.4ppm) in Pyridine- d_5

分子内氢键的存在通常可以由参与氢键质子的 $\Delta\delta/T$ 值来判断。一般而言, 分子中处于游离态的羟基质子的 δ 值随温度的变化较大。而和电子供予体 $\text{C}=\text{O}$ 形成分子内氢键 ($\text{OH}\cdots\text{O}=\text{C}$) 的羟基质子的 δ 值随温度变化较小^[6]。由上述变温实验可得到分子 2 和 3 中各羟基质子信号在不同

温度的 δ 值(见表 1)。通过分析,分别得到分子 2 和 3 中仲羟基和叔羟基质子的 $\Delta\delta/T(\text{Hz}\cdot\text{K}^{-1})$ 值(见表 2)。

表 1 分子 2 和 3 中 6, 6' 和 7 位羟基质子在不同温度时的 δ 值(ppm)

Tab. 1 Chemical shift values of 6-OH, 6'-OH and 7-OH of 2 and 3 at various temperature (ppm)

| | 2 | 2 | 2 | 3 | 3 |
|------------|------|-------|------|------|------|
| | 6-OH | 6'-OH | 7-OH | 6-OH | 7-OH |
| 27°(300°K) | 6.90 | 6.66 | 9.09 | 7.16 | 8.99 |
| 40°(313°K) | 6.82 | 6.59 | 8.91 | 7.08 | 8.80 |
| 50°(323°K) | 6.76 | 6.54 | 8.80 | 7.02 | 8.68 |

表 2 分子 2 和 3 中 6, 6' 和 7 位羟基质子的 $\Delta\delta/T$ 值($\text{Hz}\cdot\text{K}^{-1}$)

Tab. 2 $\Delta\delta/T$ values of 6-OH, 6'-OH and 7-OH of 2 and 3 ($\text{Hz}\cdot\text{K}^{-1}$)

| | 2 | 2 | 2 | 3 | 3 |
|------------------|------|-------|------|------|------|
| | 6-OH | 6'-OH | 7-OH | 6-OH | 7-OH |
| $\Delta\delta/T$ | 3.0 | 2.6 | 6.3 | 3.0 | 6.7 |

由表 2 可知,分子内仲羟基与叔羟基的 $\Delta\delta/T$ 值存在明显的差别,仲羟基为:ca. $\cong 3.0$;叔羟基

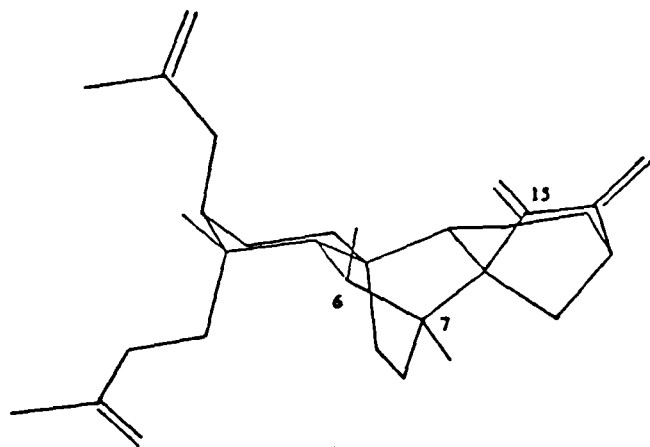


图 2. 分子 3 的低能量构象模型(氧原子和氢原子省去)

Fig. 2 The molecular modeling of 3 with low-energy conformation

为:ca. $\cong 6.5$ 。分子 2 和 3 中仲羟基和叔羟基质子的 $\Delta\delta/T$ 值相差一倍以上的事实说明,分子 2 和 3 的仲羟基质子形成了氢键。从加入一系列 NOE 距离约束条件,通过分子力学计算,并进行能量优化得到的分子 3 的分子模型骨架可以清楚地看出:B 环中 6 位 β -羟基和 D 环中 15 位酮基均位于 A, B 和 C 环构成的平面之上,能通过氢键形成稳定的七元环(图 2)。在低能量分子模型电子云图中,6 位 β -羟基的氢原子和 D 环中 15 位酮基的氧原子有一定程度的重叠,两原子间的距离约为 0.256nm。

以上实验结果对分子中6位仲羟基质子和15位羰基形成了稳定的分子内氢键并影响其化学反应性一说提供了有力佐证。迄今为止从香茶菜属植物中分离到的在D环中含有 α, β -不饱和酮的对映-贝壳杉烯二萜分子中,没有发现6位,或者7位置的乙酰化物现象可解释为植物体内该类二萜的生物合成过程中,乙酰化过程应该发生在二萜分子骨架形成之后。当该类二萜分子的羟基在植物体内的代谢过程中进行乙酰化时,其反应条件应该类似于通常的乙酰化条件(室温等),难以使叔羟基和形成了稳定的分子内氢键的羟基乙酰化。

一般认为,这一类具有很强细胞毒活性的对映-贝壳杉烯二萜的作用机理是6,15位间分子内氢键的形成,能使 α, β 不饱和酮中环外双键质子的电荷密度较低,可能有利于活性分子的活性中心和肿瘤细胞中某些酶的巯基结合^[1],使得酶活性下降甚至失活。最近研究结果表明^[7,8],许多具有细胞毒活性的低分子量分子的作用机理,是通过活性分子进入DNA的小沟(minor groove)和DNA形成复合物;我们认为,对映-贝壳杉烯二萜通过分子内氢键形成七元环后,可能更有利于和DNA发生相互作用,从而抑制肿瘤细胞的生长。

参考文献

- [1] Fijita, E.; Node, M., *Progr. Chem. Org. Nat. Prod.*, **1984**, *46*, 77.
- [2] Fujitaaa, T.; Takeda, Y.; Sun, H. D.; Marunaka, Y.; Takeda, S.; Yamada, Y.; Togo, *Planta Medica* **1988**, *5*, 414.
- [3] 沈晓羽, 博士论文, 东京大学, **1993**.
- [4] Shen, X. Y.; Isogai, A.; Furihata, K.; Sun, H. D.; Suzuki, A., *Phytochemistry*, **1994**, *35*, 725.
- [5] Kashman, Y.; Bernart, M. W.; Tischer, M.; Cardellina, J. H.; Boyd, M. R., *J. Nat. Prod.*, **1994**, *57*, 426.
- [6] Kessler, H., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1982**, *21*, 512.
- [7] Hecht, S. M., *Bioconjugate Chem.*, **1994**, 513.
- [8] Wang, L. K.; Johnson, R. K.; Hecht, S. M., *Chem. Res. in Toxicology.*, **1993**, 813.

The Effect of Intramolecular Hydrogen Bond on Reactivity of 6, 7 - Hydroxyl Groups to Acetylation in *ent* - Kaurene Diterpenoids

SHEN Xiao - Yu WU Hou - Ming *

(State Key Laboratory of Bio - organic and Natural Product Chemistry, Shanghai Institute of Organic Chemistry, Chinese Academy of Sciences, 200032, Shanghai)

SUN Han - Dong

(Laboratory of Phytochemistry, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, 650202, Kunming, Yunnan)

Abstract: *Ent* - kaurene diterpenoids were acetylated under a strong reaction condition to afford 7 - acetyl products without 6 or 6' - acetyl ones. This uncommon phenomenon may be due to the presence of hydrogen bond(s) between 6 - hydroxyl and 15 - ketone carbonyl. This hypothesis was unambiguously confirmed by the temperature gradients values $\Delta\delta/T$ ($\text{Hz} \cdot \text{K}^{-1}$) of 6, 6' 7 and 7' - hydroxyl group signal.

Key words: hydrogen bond, *ent* - kaurene, reactivity, diterpenoid