

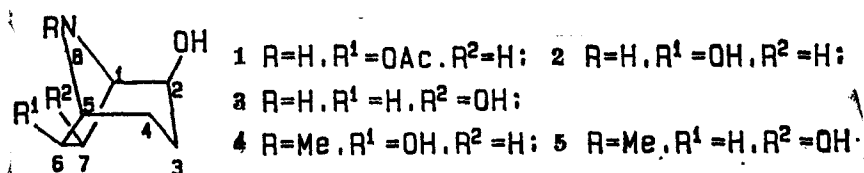
包公藤甲素及其类似物的绝对构型研究

王 朴** 姚天荣 陈泽乃*

(上海第二医科大学化学教研室, 上海)

本文采用 $\text{Pr}(\text{dpm})_3$ 诱导 CD 裂分 Cotton 效应法、激子手性法和 Horeau 法对新缩瞳剂包公藤甲素(1)及其类似物包公藤丙素(2)、凹脉丁公藤碱(3)及两者的 *N*-甲基化物(4、5)进行了研究, 确定了它们的绝对构型分别为: (2*S*, 6*S*)-2β-羟基-6β-乙酰氧基去甲莨菪烷、(2*S*, 6*S*)-2β, -6β-二羟基去甲莨菪烷、(2*S*, 7*R*)-2β, 7β-二羟基去甲莨菪烷、(2*S*, 6*S*)-2β, 6β-二羟基莨菪烷和 (2*S*, 7*R*)-2β, 7β-二羟基莨菪烷。通过构象分析和用绝对构型已知的化合物验证, 初步解释了 Horeau 法的测定结果。

包公藤甲素(Baogongteng A 1)是近年从旋花科(Convolvulaceae)丁公藤属(Erycibe Roxb.)植物中分得的一个新天然产物^[1-3], 具有强烈的拟胆碱活性, 临床用作缩瞳剂治疗青光眼^[4]。药理实验证实, 合成的外消旋包公藤甲素效价仅为天然左旋体的一半^[5], 说明其拟胆碱活性具有光学特异性。1与大多数具有抗胆碱活性的莨菪烷生物碱母核相同, 活性却相反。因此, 研究包公藤甲素的绝对构型对于进一步认识其药理作用机制, 探讨药物与受体相互作用的规律性, 指导立体定向合成, 开展构效关系研究及寻找活性类似物等都显得甚为重要。此外, 1的结构类似物包公藤丙素(Baogongteng C 2)^[6]、凹脉丁公藤碱(Erycibelline 3)^[3]及两者的 *N*-甲基化物(4、5)均为 2, 6-或 2, 7-二取代的新型莨菪烷类化合物, 它们的结构研究迄今也仅限于相对构型, 本文测定了它们的绝对构型。



由于制备单晶的多种尝试均未成功, 本文采用了 $\text{Pr}(\text{dpm})_3$ 诱导 CD 裂分 Cotton 效应法、激子手性法和 Horeau 法等三种方法相互配合和印证, 最终确定了 1、2、3、4 和 5 的绝对构型分别为: (2*S*, 6*S*)-2β-羟基-6β-乙酰氧基去甲莨菪烷、(2*S*, 6*S*)-2β-6β-二羟基去甲莨菪烷、(2*S*, 7*R*)-2β, 7β-二羟基去甲莨菪烷、(2*S*, 6*S*)-2β-6β-二羟基莨菪烷和 (2*S*, 7*R*)-2β-7β-二羟基莨菪烷。同时, 通过构象分析及用绝对构型已知的模型化合物验证, 对 Horeau 法的测定结果作了初步解释。现分述如下。

$\text{Pr}(\text{dpm})_3$ 法 利用 $\text{Pr}(\text{dpm})_3$ 诱导 CD 裂分 Cotton 效应能可靠地测定光学活性的环状 α-二醇、环状 α-氨基醇的绝对构型。被测物与 $\text{Pr}(\text{dpm})_3$ 进行二齿螯合而产生八配位配合物, 由于螯合的立体选择性, 配合物 CD 谱在以 300 nm 左右为中心产生符号相反的两个峰, 该 Cotton 效应曲线与被测物绝对构型相关, 故由 CD 谱可推断被测物的绝对构型。当较长波长处的 Cotton 效应为正时, 被测物的 Newman 投影式中, 对于与 $\text{Pr}(\text{dpm})_3$ 螯合的两基团,

1987 年 7 月 24 日收到。

** 现在贵州师范大学化学系工作。

前面基团沿最小角度旋转与另一基团重合为顺时针方向;反之,较长波长处的 Cotton 效应为负时,则上述旋转为逆时针方向^[7,8]。

在 **1** 的结构中, 2β -OH 与 8 -NH 互为邻位,符合本法的空间结构要求。对于 **2**, 2β -OH 与 8 -NH、 6β -OH 与 8 -NH 都可与 $\text{Pr}(\text{dpm})_3$ 整合,但已知 2 -C 与 6 -C 具有相同构型,即同为 *S* 或同为 *R*,故无论在 $2,8$ 位或 $6,8$ 位整合,所产生的 Cotton 效应曲线的方向都相同,即 **2** 也可用本法直接测定。由于 **2** 系天然产物,而 **1** 的去乙酰化物系由 **1** 水解衍生而得,两者互为对映体的可能尚不能完全排除,故仍有必要利用本法直接确定 **2** 的绝对构型。至于 **3**,其 2 -C、 7 -C 构型相反,推测与 $\text{Pr}(\text{dpm})_3$ 整合后各自产生的 Cotton 效应会互相抵消,最终将观察不到裂分 Cotton 效应曲线。

实验结果表明,**1** 的 Cotton 效应曲线为 $\Delta\epsilon_{313\text{ nm}}: -12.84$, $\Delta\epsilon_{289\text{ nm}}: +10.29$ 。其 2 -C 应为 *S* 构型,由此推知 6 -C 也是 *S* 构型。**2** 的 Cotton 效应曲线为 $\Delta\epsilon_{312.5\text{ nm}}: -10.53$, $\Delta\epsilon_{288\text{ nm}}: +7.74$ 。故 **2** 中 2 -C、 6 -C 构型与 **1** 相同,也均为 *S* 构型。**3** 的 CD 谱为一直线,无法确定其绝对构型。此结果与上述推测相符。

激子手性法 激子手性法用于确定 α -二醇类、 α -氨基醇类的绝对构型是七十年代发展起来的一种光学方法,可用于多种类型化合物的绝对构型研究。当发色团苯甲酰基引入到与手性碳相连的两个羟基或氨基上后,由于发色团激发态相互作用引起能量的 Davydov 裂分而产生一对方向相反的裂分 Cotton 效应。当裂分 Cotton 效应在较长波长处为正,较短波长处为负时,称为正性裂分 CD,反之称为负性裂分 CD。当两个邻二羟基苯甲酸酯的电子跃迁矩组成顺时针即呈正性裂分 CD;反之,即呈负性裂分 CD。据此可判定被测物的绝对构型^[9]。

1 的结构中, 2β -OH 及 8 -NH 引入苯甲酰基后,可直接测定其绝对构型。**2** 和 **3** 因有三个基团可苯甲酰化,不能直接用本法测定,但两者手性各自与其 *N*-甲基化物 **4**、**5** 一致,故用激子手性法测定 **4**、**5** 后,也可推知 **2**、**3** 的绝对构型。

测定结果表明 **1** 的二苯甲酰化物(**1b**)为正性裂分 CD($\Delta\epsilon_{241\text{ nm}}: +11.50$, $\Delta\epsilon_{214\text{ nm}}: -11.20$)。由构象分析可知,苯甲酰基取代在 *N* 的横键上(指向五元环一侧)较稳定,并可与 2β -苯甲酰氧基形成较大两面角而产生强的 $\Delta\epsilon$ 值。因此,**1** 的 2 -C 是 *S* 构型, 6 -C 也应为 *S* 构型。**4** 的二苯甲酰化物(**4b**)为正性裂分 CD($\Delta\epsilon_{235.5\text{ nm}}: +9.35$, $\Delta\epsilon_{218\text{ nm}}: -3.55$)。因此,**4** 的 2 -C、 6 -C 都是 *S* 构型,并可推知 **2** 的 2 -C、 6 -C 也是 *S* 构型。上述结论均与 $\text{Pr}(\text{dpm})_3$ 法相符。**5** 的二苯甲酰化物(**5b**)为正性裂分 CD($\Delta\epsilon_{237\text{ nm}}: +2.90$, $\Delta\epsilon_{220.5\text{ nm}}: -1.25$)。表明 **5** 中 2 -C 为 *S* 构型, 7 -C 为 *R* 构型,即 **3** 的 2 -C 是 *S* 构型, 7 -C 是 *R* 构型。

Horeau 法 Horeau 法是根据动力学拆分原理用以测定含仲羟基化合物绝对构型的一种经验方法。被测物与外消旋 2-苯基丁酸酐作用时,其手性碳上羟基与右或左旋的 2-苯基丁酸的反应速度不等,根据反应液的旋光方向即可判断被测物的绝对构型。Horeau A 法需分出剩余 2-苯基丁酸,如测得其旋光方向为正,则在透视式中手性碳上取代基 OH、L、M 为顺时针方向顺序,反之,顺序是逆时针方向。Horeau B 法则利用旋光性的 2-苯基丁酸在溶剂 1(5:100 水-吡啶)中的旋光度 α_1 ($[\alpha]_D^{25} \pm 107.13^\circ$) 比在溶剂 2(5:10:100 水-三乙胺-吡啶)中的旋光度 α_2 ($[\alpha]_D^{25} \pm 24.50^\circ$) 大的特性,不用分出 2-苯基丁酸,直接测定反应混合物在上述两种溶剂中的旋光差值 $\Delta\alpha$ 来判断绝对构型。若 $(\alpha_1 - 1.1\alpha_2)$ 为正值,则透视式中 OH、L、M 为顺时针方向顺序;若上述差值为负则相反。值得注意的是,在一般情况下, L 位阻大于 M,但对于某些取代基在空间伸展受到限制的化合物,往往需通过构象分析来确定取代基的立体位阻的大小,这样就会得到与一般情况下不一致的结果^[10]。

前已证实 **1**、**2** 和 **4** 的绝对构型相同, 故用 Horeau 法测定 **4** 的绝对构型后即可推知 **1** 和 **2**。 **4** 的两个羟基空间上互相远离, 且两者所连手性碳绝对构型相同, 故可将其视作相当于等摩尔的两个单羟基化合物进行测定。按 Horeau A 法, **4** 反应后分得的 2-苯基丁酸 $\alpha_D^{12} + 0.058^\circ$, 此结果系两个 OH 综合作用所致。在 **4** 的 2-C 和 6-C 构型相同的条件下, 这个综合加和值不可能由 $\alpha(+)$ 和 $\alpha(-)$ 产生, 只能由两个 $\alpha(+)$ 值产生, Horeau 法结果的验证也证实此点, 因此, 按规定 2-C 和 6-C 上的取代基从 OH 经 L 至 M 的排列均应为顺时针方向顺序。这样 2-C 和 6-C 均应为 *R* 构型, 但与前述其他方法所得结果正好相反, 这可能是由于 **4** 为桥环化合物, 因此对 2-C 和 6-C 还应通过构象分析等其他因素来确定其取代基的空间障碍的大小, 从而推断其绝对构型。

对于 6-C, 其相邻的 5-C 位于桥头而呈刚性, 使 5-C—4-C 键与 6 β -OH 总处于反式, 故 5-C 产生的空间障碍较小; 而 7-C 与 6-C 在空间形成的重叠构象, 导致 7-C 对 6 β -OH 的立体障碍增强。此外, 由于 *N*-甲基取向五元环一侧, 所产生的远程空间位阻增强了 7-C 一侧的立体障碍, 使 7-C 的空间障碍大于 5-C, 因此 6-C 的绝对构型只有处于 *S* 时, 才能符合 OH \rightarrow 7-C \rightarrow 5-C 为顺时针方向。此结论与桥环化合物表异冰片的测定结果相类似^[11]。对于 2-C, 1-C—7-C 键因与 2 β -OH 处于反式而 1-C 的位阻较小, 而 4 β -H 通过 1, 3 位阻效应使 3-C 一侧的立体位阻增强, 故 3-C 的空间障碍大于 1-C。按 OH \rightarrow 3-C \rightarrow 1-C 为顺时针方向顺序, 2-C 也应为 *S* 构型。

Horeau 法结果的验证 将外消旋 6 β -羟基莨菪烷-3-酮拆分后得一对对映体。已知右旋体 (+*B*) 的 6-C 构型为 *S*^[12,13], 其对映体 (-*B*) 的 6-C 构型为 *R*。将这对绝对构型已知、母核与 **4** 相同的对映体与 **4** 同时用 Horeau B 法测定, 以期验证对前述 Horeau 法的结果分析。实验中, **4** 仍视作相当于等摩尔的两个单羟基化合物计算投料。 **4**、+*B* 和 -*B* 的 ($\alpha_1 - 1.1\alpha_2$) 及旋光收率分别为: $+0.110^\circ$, 4.22%; $+0.101$, 3.88%; -0.110 , 3.85%。由于实验在平行条件下进行, 且所测各化合物母核相同, 故上述结果提示 **4** 反应后产生的 (+)2-苯基丁酸系由 6 β -OH、2 β -OH 各自产生的 (+)2-苯基丁酸加合所致, 因两者所受的立体位阻及化学环境的差别较小, 酯化速率也可认为近似相同, 若产生旋光方向相反的 2-苯基丁酸, 则不可能检测到与模型化合物相近的 $\Delta\alpha$ 值。此外, 实验结果也表明 **4** 的 2-C、6-C 绝对构型与 (+*B*) 相同, 为 *S* 构型。此结果与前述构象分析所得的结论相一致。

实 验

用 Kofler 微量熔点仪测定熔点, 温度未校正; 旋光用 DIP-181 型数字旋光仪; 圆二色谱用 J-500A 型带 DP-500 微机圆二色谱仪。试剂 Pr(dpm)₃ 和右旋酒石酸为西德 Merck 公司产品; 2-苯基丁酸为瑞士 Fluka 公司产品。包公藤甲素(**1**)、包公藤丙素(**2**)和凹脉丁公藤碱(**3**)均由植物中提取^[1-3]。化合物 **4**、**5** 分别由 **2**、**3** 经 *N*-甲基化后制得; 化合物 **1**、**4** 和 **5** 经苯甲酰化后分别得二苯甲酰化物 **1b**、**4b** 和 **5b**。上述衍生物的对映构型均已证明^[14]。外消旋 6 β -羟基莨菪烷-3-酮由杭州民生药厂提供。除注明外, 所用试剂、溶剂为分析纯。

Pr(dpm)₃ 法 将 Pr(dpm)₃ 在 105°C 烘 4h, 置 P₂O₅ 干燥器中备用。CCl₄ 300 mL 加 P₂O₅ 50g 室温避光放置 15h, 充 N₂ 条件下回流 4h, 取 76.7°C 馏分, 充 N₂ 密封避光保存备用。取 0.286 mg **1** 置 5 mL 容量瓶中, 4 mL CCl₄ 溶解, 加入 1.130 mg Pr(dpm)₃, 加 CCl₄ 至 5 mL, 不断振摇, 25 min 后测定上述溶液的 CD 谱, 得 $\Delta\epsilon_{313 \text{ nm}}$: -12.84, $\Delta\epsilon_{259 \text{ nm}}$: +10.29。取 0.218 mg

2, 1.180 mg Pr(dpm)_3 , 按前法操作并测 CD 谱得 $\epsilon_{432.5 \text{ nm}}$: -10.53 , $\Delta\epsilon_{288 \text{ nm}}$: $+7.74$. 取 0.230 mg **3** 和 1.182 mg Pr(dpm)_3 , 同法操作, 测得 CD 谱为一条直线, 观察不到 Cotton 效应.

激子手性法 精确称取 **1b**、**4b** 和 **5b** 分别配成 0.275 mg/mL、0.225 mg/mL 和 0.398 mg/mL 的乙醇溶液, 依次测 CD 得 $\Delta\epsilon_{241 \text{ nm}}$: $+11.50$, $\Delta\epsilon_{214 \text{ nm}}$: -11.20 , $\Delta\epsilon_{235.5 \text{ nm}}$: $+9.35$, $\Delta\epsilon_{218 \text{ nm}}$: -3.55 , $\Delta\epsilon_{237 \text{ nm}}$: $+2.90$, $\Delta\epsilon_{220.5 \text{ nm}}$: -1.25 .

Horeau 法 取 10 g 2-苯基丁酸按文献方法处理^[10], 得 5.59 g 2-苯基丁酸酐. Horeau A 法: 取 48.5 mg **4** (0.309 mmol) 加 0.125 g/mL 2-苯基丁酸酐的无水吡啶溶液 3.0 mL (相当于 2-苯基丁酸酐 1.210 mmol). 8h 后加 2 滴水分解过量酐. 再过 1h 加 2 mL CHCl_3 , 1 滴酚酞指示剂, 用 0.09017 mol·dm⁻³ 的 NaOH 滴定至终点. 共耗 NaOH 溶液 23.45 mL. 分取水层, 酸化, 苯 (5 mL \times 5) 萃取. 苯液常法处理得 265 mg 白色晶状物, 将其配成 90.75 mg/mL 的苯溶液, 测旋光得 α_D^{20} 0.058°.

6 β -羟基莨菪烷-3-酮的拆分 6.7785 g 6 β -羟基莨菪烷-3-酮 (43.73 mmol) 加 6.5652 g 右旋酒石酸 (43.74 mmol). 80% 乙醇加热溶解. 初次析出之晶体用乙醇重结晶至旋光恒定. 得 5.3 g 白色棱晶. m.p. 151—153°C. $[\alpha]_D^{25} + 24.35^\circ$ (c 1.76, H_2O). 此晶经 717-OH 型阴离子树脂常法处理, 所得碱性物质用乙醇重结晶, 得 1.8 g 无色棱晶. m.p. 127—128°C. $[\alpha]_D^{25} + 17.4^\circ$ (c, 0.91, EtOH). 此晶即 (*S*)-6 β -羟基莨菪烷-3-酮 (**+B**). 前述母液部分减压浓缩, 放置冰箱. 析出之晶体用乙醇重结晶至旋光恒定. 得 3.5 g 无色针晶. m.p. 48—50°C. $[\alpha]_D^{25} + 4.2^\circ$ (c 1.00, H_2O). 此晶按前法处理, 得 1.5 g (*R*)-6 β -羟基莨菪烷-3-酮 (**-B**). m.p. 124.5—126°C. $[\alpha]_D^{25} - 16.8^\circ$ (c 1.10, EtOH).

Horeau B 法 精确称取 **4** 0.0145 g (0.092 mmol), (**+B**) 0.0317 g (0.205 mmol), (**-B**) 0.0308 g (0.199 mmol) 分盛于三只磨口瓶. 依次加入 0.1262 g (0.407 mmol), 0.1240 g (0.400 mmol), 0.1177 g (0.380 mmol) 苯基丁酸酐, 再分别加无水吡啶 1.20 mL, 20 \pm 5°C 保持 12h, 依次加水 0.06 mL. 1.5h 后测得旋光 α_1 为: **4** $\alpha_D^{13} - 0.559^\circ$; (**+B**) $\alpha_D^{13} + 1.328^\circ$; (**-B**) $\alpha_D^{13} - 1.189^\circ$. 各瓶加 0.12 mL 三乙胺, 0.5h 后测旋光 (α_2) 得: **4** $\alpha_D^{13} - 0.608^\circ$; (**+B**) $\alpha_D^{13} + 1.115^\circ$; (**-B**) $\alpha_D^{13} - 0.990^\circ$. 各值代入 $(\alpha_1 - 1.1\alpha_2)$ 得: **4** $+0.110^\circ$; (**+B**) $+0.101^\circ$; (**-B**) -0.100° .

中科院上海药物研究所分析室沈春镒、糜竞芳老师代测圆二色谱和旋光, 特此致谢.

参 考 文 献

- [1] 姚天荣, 陈泽乃, 药学报, 1979, 14, 731.
- [2] 姚天荣, 陈泽乃, 易大年, 徐光漪, 药学报, 1981, 16, 582.
- [3] 陆 阳, 姚天荣, 陈泽乃, 药学报, 1986, 21, 829.
- [4] 上海第二医学院药理教研室, 眼科通讯, 1980 (12), 12.
- [5] 孙 琛, 俞嵩瑶, 汪丽娟, 冯菊妹, 崔永跃, 上海第二医科大学学报, 1986, 40.
- [6] 陈泽乃, 徐佩娟, 姚天荣, 中草药, 1986, 17, 2.
- [7] Dillon, J.; Nakanishi, K., *J. Am. Chem. Soc.*, 1975, 97, 5409.
- [8] Dillon, J.; Nakanishi, K., *J. Am. Chem. Soc.*, 1975, 97, 5417.
- [9] Harada, N.; Nakanishi, K., "Circular Dichroic Spectroscopy Exciton Coupling in Organic Stereochemistry", Oxford University Press, London, 1983, p. 1.
- [10] Kagan, H. B., "Stereochemistry Fundamentals and Methods", Vol. 3, Georg Thieme Publishers, Stuttgart, 1977, p. 51.
- [11] Marquet, A.; Horeau, A. *Bull. Soc. Chim. France*, 1979, 124.
- [12] Stoll, A.; Lindenmann, A.; Jucker, E., *Helv. Chim. Acta*, 1953, 36, 1506.
- [13] Podor, G.; Soti, F., *J. Chem. Soc.*, 1965, 6830.
- [14] 王 朴, 姚天荣, 陈泽乃, 硕士论文, 上海第二医科大学, 上海, 1987.

Studies on the Absolute Configurations of Baogongteng A and Its Analogs

Wang Pu Yao Tian-Rong Chen Ze-Nai*

(Department of Chemistry, Shanghai Second Medical University, Shanghai)

Abstract

The absolute configurations of the new myotic baogongteng A (1), its analogs baogongteng O(2), erycibelline (3) and their *N*-methyl derivatives (4, 5) were studied with reagent $[\text{Pr}(\text{dpm})_3]$ induced CD split Cotton effect method, exciton chirality method and Horeau method, and shown to be (2*S*, 6*S*)-2 β -hydroxyl-6 β -acetoxynortropene, (2*S*, 6*S*)-2 β , 6 β -dihydroxynortropene, (2*S*, 7*R*)-2 β , 7 β -dihydroxynortropene, (2*S*, 6*S*)-2 β , 6 β -dihydroxyltropene and (2*S*, 7*R*)-2 β , 7 β -dihydroxyltropene respectively. By conformational analysis as well as comparison with model compounds whose absolute configurations have been known, the results of Horeau method were explained.