



УДК 547.565

ХИМИЯ ГИПЕРФОРИНА

VII. СТРОЕНИЕ ТЕТРАКАРБОНИЛЬНОЙ СИСТЕМЫ

*Быстров Н.С., Добрынин В.Н., Колосов М.Н.,
Чернов Б.К.*

*Институт биоорганической химии им. М. М. Шемякина
Академии наук СССР, Москва*

Исследованы реакции термической изомеризации эфиров алкилгиперфориновых кислот и гидрирования продуктов термоллиза. В результате анализа ЯМР- и УФ-спектров установлено, что тетракарбонильная система гиперфорина представляет собой 2-изобутирил-4,6-диалкилциклогексан-1,3,5-трион с мостиком в положении 2,4.

В предыдущем сообщении [1] нами была описана деградация антибиотика гиперфорина в тетракарбоновую кислоту (II), названную метилгиперфориновой, и доказано, что этот антибиотик содержит енолизovanную и неенолизovanную β -дикетонные группировки и два углеродных цикла. Для выяснения взаимного расположения этих группировок большое значение имело открытие необычной реакции термического расщепления одного из углеродных колец антибиотика. Было обнаружено, что при непродолжительном нагревании тетраметилловый эфир метилгиперфориновой кислоты (III) с высоким выходом превращается в изомерное вещество — тетраметилловый эфир метилизогиперфориновой кислоты (VII). Изомерный эфир сильно отличается от исходного по своим спектральным свойствам, и особенно важная структурная информация была получена при сравнительном изучении ЯМР- и УФ-спектров этих соединений.

Спектр ЯМР тетраэфира метилгиперфориновой кислоты (III) (рис. 1) свидетельствует о наличии двух метильных групп при четвертичных атомах углерода (синглеты при 0,75 и 1,42 м.д.). Первая из них присутствует в исходном антибиотике (I), а вторая входит в него, очевидно, на стадии С-метилирования [1], поскольку замена в этой реакции CH_3I на CD_3I приводит (после окисления периодат-перманганатом и этерификации) к тридейтерометилгиперфориновому эфиру, в спектре ЯМР которого трехпротонный синглет при 1,42 м. д. отсутствует. Что касается двух других С-метильных групп (дублеты при 0,87 и 1,1 м. д., J 7 Гц), то методом INDOR было установлено, что они спарены с одним и тем же метиновым протоном (септет при 2,40 м. д., J 7 Гц), химический сдвиг которого указывает на дезэкранирование соседней карбонильной группой. Таким образом, четыре перечисленные группы (два метила, метин и карбонил) составляют изобутирильный остаток (COCHMe_2), который содержит единственный обнаруженный ранее в гиперфореине [1] Н-атом в α -положении к кетогруппе. Следовательно, остальные сигналы при 2—3 м. д. принадлежат протонам, находящимся в α -положениях к сложноэфирным группам.

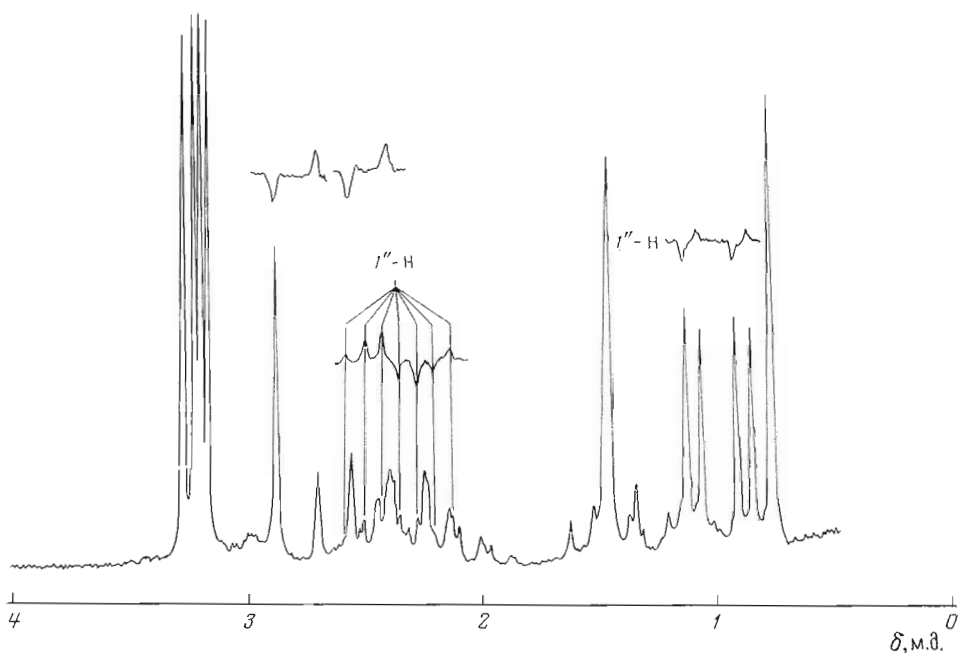


Рис. 1. Спектр ЯМР и двойного ЯМР (INDOR) тетраметилового эфира метилгиперфорфоровой кислоты (III) в CCl_4 при 100 МГц

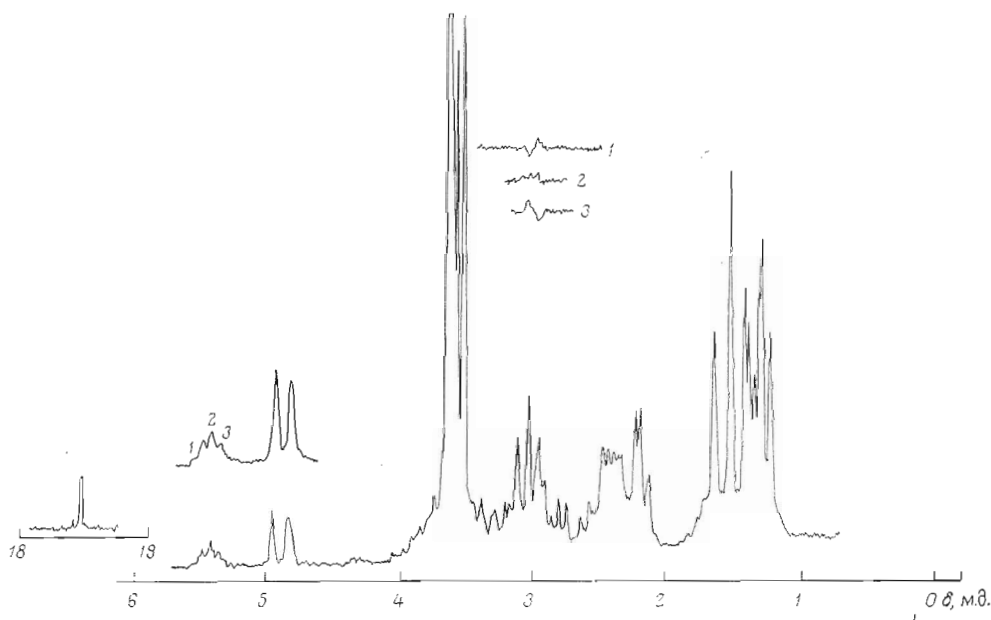
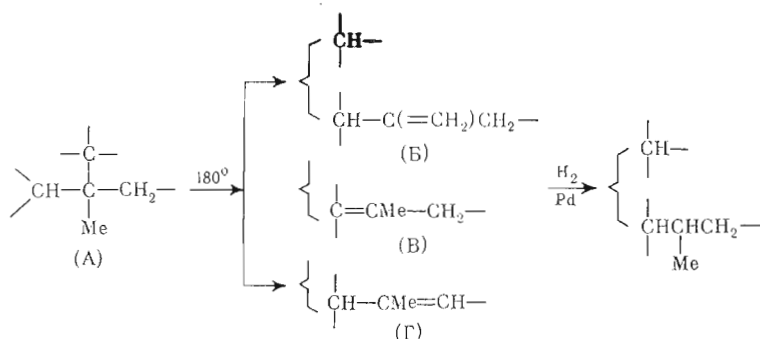


Рис. 2. Спектр ЯМР и двойного ЯМР (INDOR) тетраметилового эфира метилизогиперфорфоровой кислоты (VII) в CCl_4 при 100 МГц

В этой области спектра легко идентифицируются сигналы двух изолированных метиленов, один из которых представляет собой синглет (при 2,86 м. д.), а другой — систему АВ (дублеты с центрами при 2,46 и 2,76 м. д., J 17 Гц). Очевидно, обе эти карбометоксиметиленовые группировки находятся в молекуле тетраэфира (III) при четвертичных атомах углерода.

В отличие от эфира метилгиперфориновой кислоты (III), спектр ЯМР которого не имеет сигналов дальше 3,3 м. д., у продукта его термической изомеризации (VII) в спектре ЯМР (рис. 2) присутствуют две группы сигналов в области 4,7—5,5 м. д., а вместо имевшегося ранее синглетного сигнала С-метила при четвертичном центре (δ 0,75 м. д.) проявляется синглет метильной группы при двойной связи (δ 1,64 м. д.). Сигналы при 4,7—5,5 м. д. по своей интегральной интенсивности не соответствует целому числу протонов, составляя в сумме лишь ~ 1,5 Н. Их анализ методом INDOR показал, что сигнал при 4,7—4,9 м. д. обусловлен концевой метиленовой группой $\text{CH}_2=\text{C}$, а мультиплет в области 5,3—5,5 м. д. — олефиновым протоном группировки $\text{CH}_3-\text{C}(\text{CH})=\text{CH}-\text{CH}_2$. При гидрировании с Pd эфир метилизогиперфориновой кислоты легко поглощает 1 моль водорода, в результате чего в спектре ЯМР исчезают сигналы олефиновых протонов и аллильной метильной группы и появляется новый трехпротонный сигнал в сильном поле. Последнее превращение окончательно доказывает наличие этиленовой связи в гидрируемом веществе, а поскольку реакция термоллиза эфира метилгиперфориновой кислоты представляет собой изомеризацию, то образование новой двойной связи должно компенсироваться расщеплением одного из имевшихся циклов. Следовательно, продукт термоллиза метилгиперфоринового эфира является моноциклическим, а вследствие того, что интегральная интенсивность его олефиновых протонов не целочисленна и характер содержащих их группировок различен, он не индивидуален и, очевидно, представляет собой смесь моноциклических соединений (Б—Г), различающихся положением этиленовой связи.

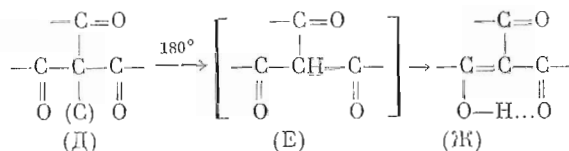


Эфир метилизогиперфориновой кислоты (VII) обладает интенсивным УФ-поглощением, которое зависит от pH раствора (таблица). Аналогичный УФ-спектр имеет также его дигидропроизводное, откуда следует, что двойная связь в эфире изогиперфориновой кислоты находится в нехромофорной части молекулы. Сходство УФ-спектров этих веществ и 2-аце-

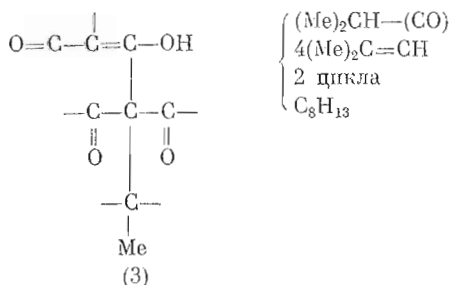
Вещество	$\lambda_{\text{макс}}$, нм (ε)	
	в 0,05 н. спиртовом HCl	в 0,05 н. спиртовом NaOH
Эфир метилгиперфориновой кислоты (III)	298 * (250)	.
Эфир метилизогиперфориновой кислоты (VII)	240 (10 900) 282 (12 800)	280 (18 800)
Эфир метилдигидроизогиперфориновой кислоты (IX)	243 (8500) 283 (10 000)	280 (16 500)
2-Ацетилдимедон	231 (13 000) 275 (10 900)	270 (18 000)

* В 96% EtOH в отсутствие HCl.

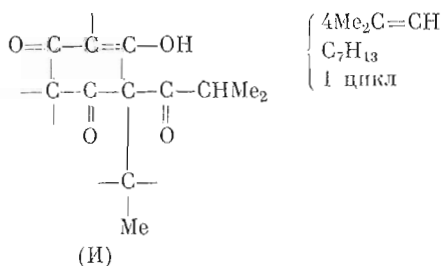
тилдимедона позволило предположить, что метилизогиперфориновый хромофор представляет собой перекрестно-сопряженную трикетонную группировку (Ж). В подтверждение этой гипотезы было найдено, что метилизогиперфориновый эфир по своей кислотности (pK_a 4,6) близок к 2-ацетилдимедону (pK_a 4,9) [2] и что в его спектре ЯМР имеется сигнал хелатного протона, δ 18,4 м. д.



Известно, что трикетоны типа (Е) существуют практически полностью в енолизированной форме [3]. Тот факт, что в метилгиперфориновой структуре ни одна из кетонных групп не енолизовалась, можно объяснить тем, что до термоллиза енолизация была невозможна из-за наличия заместителя при атоме углерода, связанном с тремя кетогруппами (Д). Таким образом, реакция термоллиза заключается в разрыве связи между двумя четвертичными углеродами — узловым атомом β -трикетонной группировки и С-атомом, к которому присоединена метильная группа, причем разрывающаяся связь является частью одного из двух карбоциклов. Поскольку четвертая кетогруппа находится в β -положении к одной из трех предыдущих [1], гиперфорин должен иметь частичную формулу (3):



Для дальнейшего выяснения структуры антибиотика важное значение имело наблюдение [1], что С-метилгиперфорин содержит только один Н-атом в α -положении к кетогруппе, который, как было показано выше, входит в состав изобутирильного остатка (наличие этого остатка было также подтверждено идентификацией изомасляной кислоты среди продуктов расщепления метилизогиперфоринового эфира при окислении щелочной H_2O_2). Все остальные углеродные атомы в α -положениях к кетогруппам должны быть четвертичными, а так как гиперфорин содержит только четыре боковые цепи (не считая изобутирильной), то имеющегося числа заместителей недостаточно для создания еще двух α -четвертичных центров в дополнение к изображенным в формуле (3). Это означает, что один четвертичный центр является общим для двух кетогрупп, откуда вытекает частичная структура гиперфорина (И):



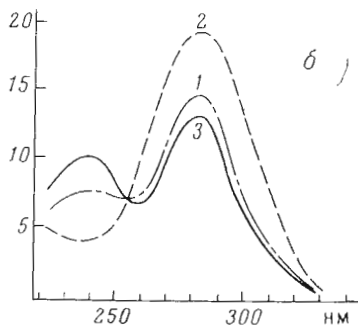
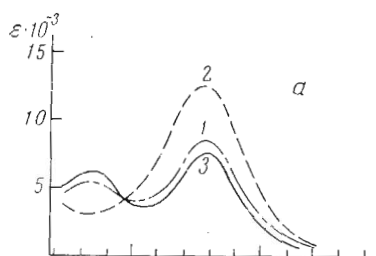


Рис. 3

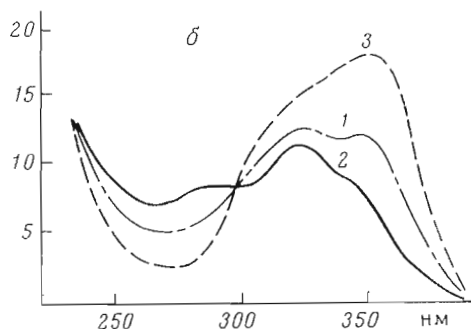
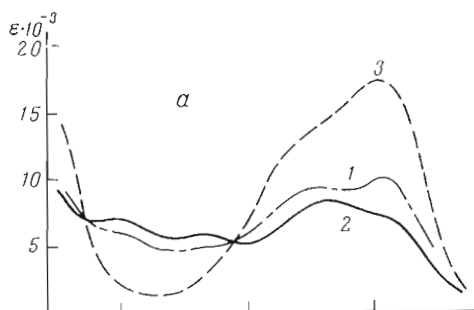


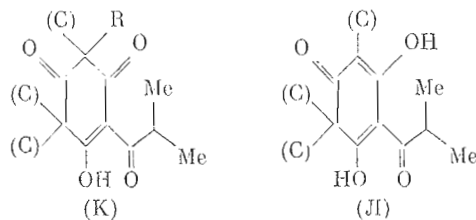
Рис. 4

Рис. 3. УФ-спектры 2-ацетил-4, 4, 6, 6-тетраметилциклогексан-1, 3, 5-триона (а) и тетраметилового эфира метилизогиперфориновой кислоты (VII) (б): 1 — в спирте, 2 — в 0,05 н. спиртовом NaOH, 3 — в 0,05 н. спиртовом HCl

Рис. 4. УФ-спектры 2-ацетил-4, 6, 6-триметилциклогексан-1, 3, 5-триона (а) и тетраметилового эфира (X) (б): 1 — в спирте, 2 — в 0,05 н. спиртовом HCl, 3 — в 0,05 н. спиртовом NaOH

Что касается продукта термолитиза метилгиперфоринового эфира, то он должен иметь строение 4,4, 6, 6-тетразамещенного 2-изобутирилциклогексан-1,3,5-триона типа (К, R = Me). Действительно, мы нашли, что УФ-спектр этого вещества совершенно аналогичен спектру тетра-С-метилного производного ацетилфлороглюцина (рис. 3).

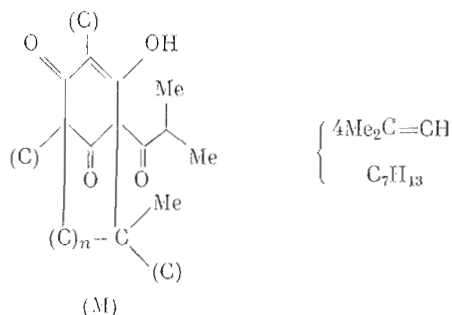
Для подтверждения структуры тетракарбонильной системы гиперфорина мы использовали то обстоятельство, что в соединениях типа (К, R = PhCH₂—) С-бензильная группа обладает уникальной способностью к гидрогенолизу [4], напоминая в этом отношении О- и N-бензильные группы. В результате такого гидрогенолиза все четыре карбонила вступают в сопряжение и образуется новый интенсивный хромофор (Л), который легко идентифицируется по характерному УФ-спектру.



Гиперфорин действием бромистого бензила и гидрида натрия в диметилсульфоксиде был превращен в С-бензильное производное, которое было окислено по С=С-связям смесью KMnO₄+NaIO₄, а образовавшаяся тетракарбоновая кислота проэтерифицирована диазометаном. Полученный таким образом эфир бензилгиперфориновой кислоты подобно его метиль-

ному аналогу легко подвергался термической изомеризации при 180—190°. Продукт изомеризации восстанавливали над Pd в водно-метанольном растворе HCl, причем одновременно с насыщением двойной связи, возникающей при термоллизе, происходил гидрогенолиз С-бензильной группы. В результате было получено вещество, УФ-спектр которого оказался почти идентичным спектру три-С-метильного производного флорацетофенона (рис. 4).

Это превращение окончательно доказало, что одно из колец гиперфорина представляет собой 2, 2, 4, 4, 6-пентазамещенный циклогексан-1, 3, 5-трион. Очевидно, что второе кольцо, разрывающееся при термоллизе, должно быть сочленено с первым в положениях 2, 4, так как, согласно правилу Бредта, 1-кетогруппа не могла бы енолизироваться, если бы углеродный мостик в циклогексантирионовом кольце находился в положении 2, 6. Таким образом, гиперфорину отвечает частичная структурная формула (M):



Полные формулы обсуждаемых соединений приведены на схеме (с. 804).

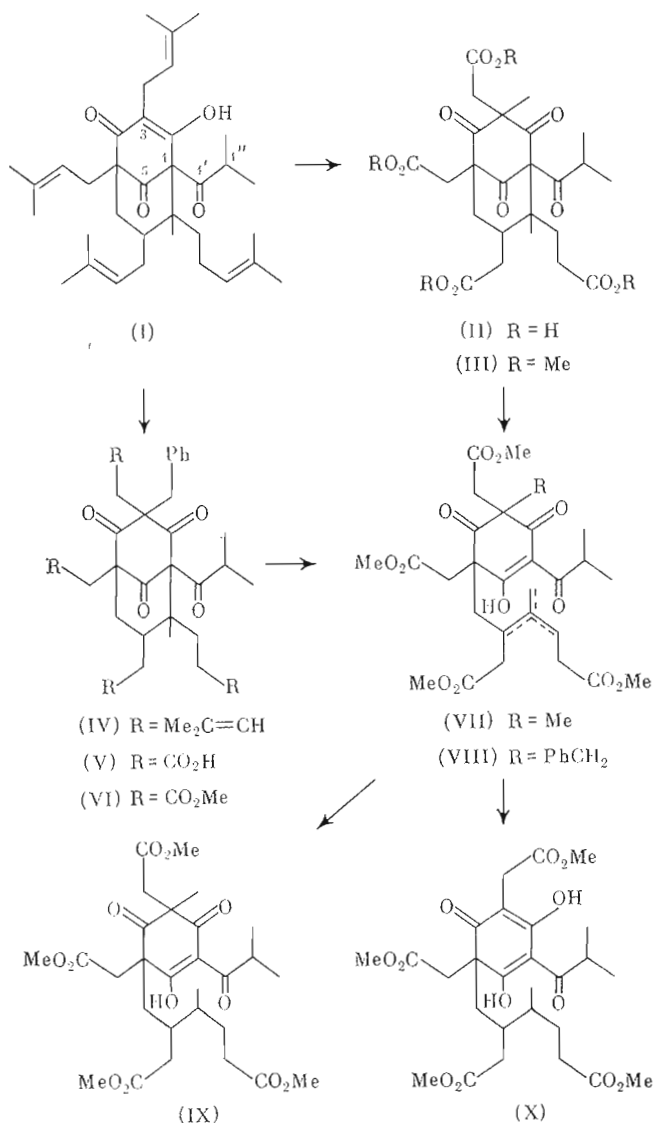
Экспериментальная часть

Общие сведения об эксперименте см. [1].

Термоллиз тетраметилового эфира метилгиперфориновой кислоты (III). 100 мг тетраэфира (III) нагревали 5 мин при 180—190°. Продукт термоллиза выделили сублимацией в вакууме. Получили 67 мг (67%) тетраэфира метилизогиперфориновой кислоты (VII); ИК (CCl_4 , ν , см^{-1}): 1745, 1720, 1680, 1560; УФ: см. таблицу; ЯМР (CCl_4 , δ , м. д.): 1,2—1,4 (6H), 1,5 (3H, с), 1,64 (Me — C=C—), 3,5—3,7 (12H), 4,9 и 5,2 (1,5H), 18,48 (1H); pK_a 4,6 (определено спектрофотометрически в 50% спирте). Найдено: M 566. $\text{C}_{28}\text{H}_{38}\text{O}_{12}$. Вычислено: M 566.

Гидрирование тетраметилового эфира метилизогиперфориновой кислоты (VII). 300 мг тетраэфира (VII) в 15 мл метанола гидрировали над 140 мг 5% Pd/C до прекращения поглощения водорода. С помощью препаративной ТСХ (кремневая кислота II акт., бензол — ацетон, 5:1) выделили 220 мг (74%) тетраэфира метилдигидроизогиперфориновой кислоты (IX); ИК (CCl_4 , ν , см^{-1}): 1745, 1675, 1560; УФ: см. таблицу; ЯМР ($\text{CCl}_4 + \text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$, δ , м. д.): 0,83 (3H, ш), 1,21 (3H), 1,38 (3H), 1,60 (3H), 3,6—3,85 (12H). Найдено: M 568. $\text{C}_{28}\text{H}_{40}\text{O}_{12}$. Вычислено: M 568.

Расщепление тетраметилового эфира метилдигидроизогиперфориновой кислоты (IX). А. 150 мг тетраэфира (IX) нагревали 2 ч при 140° в ампуле с 2 мл конц. HCl. Реакционный раствор разбавили водой и экстрагировали эфиром, экстракт промыли трижды 10% Na_2CO_3 и объединенные содовые вытяжки подкислили 10% H_2SO_4 . Летучие кислоты отогнали с водяным паром и часть их этерифицировали диазометаном, а другую часть обработали *n*-бромфенацилбромидом в водном спирте. При анализе образовавшихся метиловых эфиров с помощью ИЖХ (10% ПЭГС, 100°) идентифицировали метилизобутират; из второй аликвоты выделили *n*-бромфенациловый эфир изомасляной кислоты, т. пл. 76—77° (из спирта).



Б. 112 мг тетраэфира (IX), 6 мл 20% NaOH и 4 мл 30% H₂O₂ перемешивали 16 ч при 20°. Избыток перекиси разложили прибавлением 5% Pd/C, насыщенного водородом. Раствор профильтровали, подкислили до pH 2 и перегнали с водяным паром. Из дистиллята выделили изомасляную кислоту в виде *n*-бромфенацилового эфира, т. пл. 76–77°.

С-бензилирование гиперфорина (I). К раствору 1,5 г гиперфорина в 20 мл диметилсульфоксида при перемешивании прибавили 75 мг NaNH, а затем 1 мл бромистого бензила. Через 16 ч прибавили спирт, разбавили водой и экстрагировали петролейным эфиром. Экстракт упарили, остаток в бензоле профильтровали через слой окиси алюминия и вещество кристаллизовали из метанола. Получили 0,78 г (42%) С-бензилгиперфорина (IV), т. пл. 119–121°. ИК (CCl₄, ν, см⁻¹): 1725, 1700, 1690, 870; УФ: λ_{макс} 240, 302 нм (ε 4050, 280); ЯМР (CCl₄, δ, м. д.): 1,0 (3H, с), 1,1 (3H, д, J 7 Гц), 1,24 (3H, д, J 7 Гц), 1,54–1,80 (24H), 4,7–5,2 (4H), 5,34 (2H), 6,9–7,2 (5H). Найдено: M 626. C₄₂H₅₈O₄. Вычислено: M 626.

Окисление С-бензилгиперфорина (IV). К 2,5 г С-бензилгиперфорина (IV) в 80 мл трет-бутанола при перемешивании прибавили 3 г K₂CO₃ в 50 мл воды, а затем постепенно в течение 1 ч раствор 20,6 г NaIO₄ и 0,4 г

KMnO_4 в 250 мл воды. Реакционную смесь интенсивно перемешивали 36 ч при 20° , избыток окислителя разложили добавлением 5 мл этиленгликоля, подкислили 10% H_2SO_4 до pH 3 и экстрагировали эфиром. Остаток после упаривания эфирного экстракта хроматографировали на колонке с кремневой кислотой при градиентном элюировании смесью бензол — ацетон. Из фракции, элюированной смесью бензол — ацетон (3:2), выделили 1,3 г (56%) бензилгиперфориновой кислоты (V). Этерификацией этой кислоты диазометаном в эфирном растворе получили тетраметилловый эфир (VI); ИК (CCl_4 , ν , cm^{-1}): 1740, 1700, 1690, 1600, 865; ЯМР (CCl_4 , δ , м. д.): 1,02 (3H, с), 1,08 (3H, д, J 7 Гц), 1,20 (3H, д, J 7 Гц), 3,6—3,68 (14H), 7,2 (5H). Найдено: M 642. $\text{C}_{34}\text{H}_{42}\text{O}_{12}$. Вычислено: M 642.

Термолиз тетраметилового эфира бензилгиперфориновой кислоты (VI). 0,96 г тетраэфира (VI) нагревали 20 мин при 200° . Затем хроматографией на силикагеле в системе бензол — ацетон (4:1) выделили 0,4 г (42%) тетраэфира бензилизогиперфориновой кислоты (VIII), УФ: $\lambda_{\text{макс}}^{\text{H}^+}$ 240, 285 нм (ϵ 12 300, 12 700), $\lambda_{\text{макс}}^{\text{HO}^-}$ 286 нм (ϵ 18 300). Найдено: M 642. $\text{C}_{34}\text{H}_{42}\text{O}_{12}$. Вычислено: M 642.

Гидрогенолиз тетраметилового эфира бензилизогиперфориновой кислоты. 0,35 г тетраэфира (VIII) в 15 мл метанола, 0,12 г PdCl_2 в 5 мл 1 н. HCl и 30 мг Pd/C перемешивали в атмосфере H_2 при 20° до прекращения поглощения водорода. После отделения катализатора, упаривания в вакууме и препаративной ТСХ (силикагель, бензол — ацетон, 4:1) выделили 90 мг (31%) тетраэфира (X); УФ: $\lambda_{\text{макс}}^{\text{H}^+}$ 320 нм (ϵ 11 200), $\lambda_{\text{макс}}^{\text{HO}^-}$ 352 нм (ϵ 18 000). Найдено: M 534. $\text{C}_{27}\text{H}_{36}\text{O}_{12}$. Вычислено: M 534.

ЛИТЕРАТУРА

1. Быстров Н. С., Добрынин В. Н., Колосов М. Н., Поправко С. А., Чернов Б. К. (1978) Биоорг. химия, 4, 791—797.
2. Chan W. R., Hassall C. H. (1956) J. Chem. Soc., 3495—3499.
3. Stevens R. (1967) Chem. Rev., 67, 19—71.
4. Murin B., Riedl W. (1959) Chem. Ber., 92, 2029—2032.

Поступила в редакцию
24.XI.1977

CHEMISTRY OF HYPERFORIN. VII. THE STRUCTURE OF THE TETRACARBONYL SYSTEM

BYSTROV N. S., DOBRYNIN V. N., KOLOSOV M. N.,
CHERNOV B. K.

*M. M. Shemyakin Institute of Bioorganic Chemistry, Academy
of Sciences of the USSR, Moscow*

The transformations of alkylhyperforic acid esters on thermal isomerization followed by hydrogenation were studied. NMR and UV spectra of the reaction products proved the tetracarbonyl system of hyperforin to be that of a 2-isobutyl-4,6-dialkylcyclohexane-1, 3, 5-trione bridged at the carbons 2 and 4.