

УДК 547.913.6:548.737

СОЕДИНЕНИЯ ВКЛЮЧЕНИЯ НА ОСНОВЕ 16(S)-ДИГИДРО- И 15-ЕН-СТЕВИОЛОВ

© 2009 О.А. Лодочникова*, Р.Н. Хайбуллин, Р.З. Мусин, А.Т. Губайдуллин, В.Е. Катаев

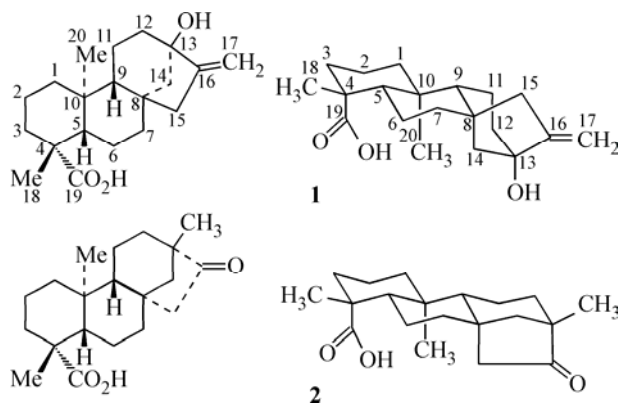
Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова КазНЦ РАН

Статья поступила 29 июля 2008 г.

Методом РСА изучены структуры соединений включения дитерпеноида 15-ен-стевиола с хлороформом и 16-*S*-дигидростевиола с хлороформом и этилацетатом. Во всех трех случаях соотношение "гость—хозяин" равно 1:2, молекулы дитерпеноида посредством разветвленной системы водородных связей образуют трехмерный ассоциат со спиралевидными пустотами, в которых расположены молекулы растворителя. Кристаллы всех трех комплексов изоструктурны, при этом молекула этилацетата в соответствующем соединении включения локализована, в то время как в комплексах с хлороформом молекулы растворителя разупорядочены.

Ключевые слова: дитерпеноиды, стевиол, водородные связи, соединения включения.

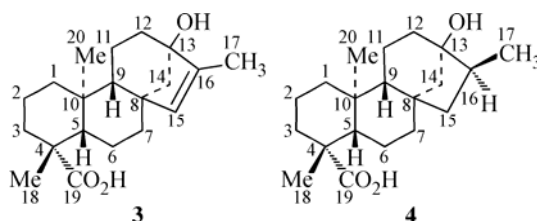
Тетрациклические дитерпеноиды представляют собой обширный класс природных веществ, интерес к которым обусловлен как их биологической активностью [1–6], так и тем фактом, что даже незначительные изменения их структуры приводят к существенным изменениям активности [4, 7–9]. Так, например, агликон гликозидов растения *Stevia rebaudiana* Vertoni, дитерпеноид стевиол **1** [1], ингибирует поглощение глюкозы [3], обмен АДФ/АТФ [4] и окислительное фосфорилирование [5], тогда как отличительной чертой его изомера, дитерпеноида изостевиола **2** [1], является значительный антигипертензивный и гипотензивный эффект [9], обусловленный открытием Ca^{2+} -чувствительных калиевых каналов [10–12]. Отметим, что эти два изомера отличаются как химическим строением, так и молекулярной геометрией: в стевиоле **1** циклы *B* и *C* имеют *цис*-сочленение, а в изостевиоле **2** — *транс* [2]. Кроме того, было установлено, что изостевиол **2** кристаллизуется из метанола в индивидуальном виде, образуя классические для карбоновых кислот вилочковые димеры, тогда как стевиол **1** кри-



* E-mail: olga@iopc.knc.ru

сталлизуется из этого же растворителя в виде кристаллосольвата [13]. Молекулы стевииола **1** в кристалле образуют при участии молекул растворителя водородно-связанные спирали вдоль одной из кристаллографических осей, причем интересно, что гидроксильная группа при атоме C^{13} водородных связей не образует [13].

В настоящей работе мы анализируем кристаллическую структуру двух новых представителей тетрациклических дитерпенов кауренового ряда 15-ен стевииола **3** и 16(*S*)-дигидростевииола **4**. Методики получения этих соединений описаны нами ранее [14]. 15-ен стевииол **3** — структурный изомер стевииола **1**, отличающийся от него положением кратной связи, которая в стевииоле **1** является экзоциклической $C^{16}=C^{17}$, а в его изомере **3** — эндоциклической $C^{15}=C^{16}$. 16(*S*)-Дигидростевииол **4** является продуктом гидрирования стевииола **1**.



Вначале нами были изучены кристаллы на основе соединений **3** и **4**, выращенные из хлороформа (**3a** и **4a**). РСА показал, что кроме молекул основного вещества в кристаллах содержатся также молекулы "гостя", предположительно хлороформа, однако разупорядоченность "гостя" требовала дополнительной проверки его природы. Мы обратились к методу масс-спектрометрии, поскольку все хлорсодержащие растворители дают характеристичный для каждого соединения набор линий в спектре.

В масс-спектре образца **4a** пики ионов с m/z 320 и 118 отвечали молекулярным ионам (M^+) молекул 16-*S*-дигидростевииола и трихлорметана соответственно. Нами были сняты масс-спектры при двух температурах ввода пробы: при 25 и 50 °С. При температуре системы ввода пробы 25 °С отношение интенсивностей пиков M^+ -ионов m/z 118 и 320 1,0:0,10, а при 50 °С — 0,46:1,0. Масс-спектр, полученный при температуре 25 °С, практически полностью совпал с масс-спектром $CHCl_3$ из компьютерного каталога "NIST версия 1.6" прибора. Указанное выше изменение в масс-спектре свидетельствовало о том, что в ходе исследования происходило фракционирование образца и смесь обогащалась труднолетучим соединением.

Подтвержденная масс-спектрометрическим методом природа соединения включения позволила нам однозначно определить положение молекул трихлорметана как разупорядоченное по двум положениям с примерно равной заселенностью, при соотношении гость—хозяин 1:2.

К настоящему моменту в КБСД содержится информация о достаточно большом количестве соединений включения, содержащих в качестве гостя молекулы хлороформа или четыреххлористого углерода [15—18]. Авторы этих работ отмечают, что достаточно часто кристаллическая упаковка образована только взаимодействиями молекул "хозяина" между собой, следствием чего является образование трехмерной структуры, обладающей значительными пустотами, молекулы "гостя" заполняют эти пустоты, при этом взаимодействия молекул хозяина с молекулами гостя ничтожно малы.

Дитерпеноиды представлены в исследованных нами кристаллах двумя независимыми молекулами *A* и *B*, геометрия которых совпадает в пределах погрешности эксперимента, единственное различие проявляется в расположении гидроксильного атома водорода, что связано с различиями в системе межмолекулярных взаимодействий (рис. 1).

Рассмотрение кристаллической упаковки показывает наличие чрезвычайно развитой трехмерной системы водородных связей, которой ранее мы не наблюдали для других представителей этого ряда, а именно: каждая из двух функциональных групп — карбоксильная и гидроксильная — участвует в двух типах взаимодействий, выступая в одном из них в качестве донора, и в другом — в качестве акцептора протона (табл. 1).

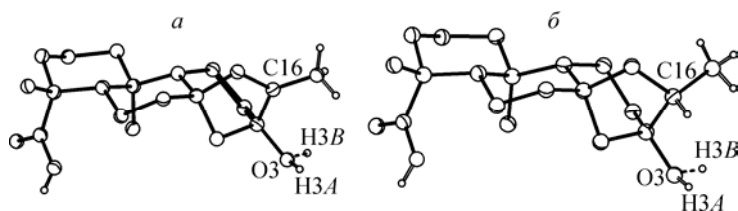


Рис. 1. Молекулы *A* и *B* соединения **3**, совмещенные по неводородным атомам (*а*), молекулы *A* и *B* соединения **4**, совмещенные по неводородным атомам (*б*); расположение гидроксильных атомов H^{3A} , H^{3B} различно, атомы водорода показаны выборочно

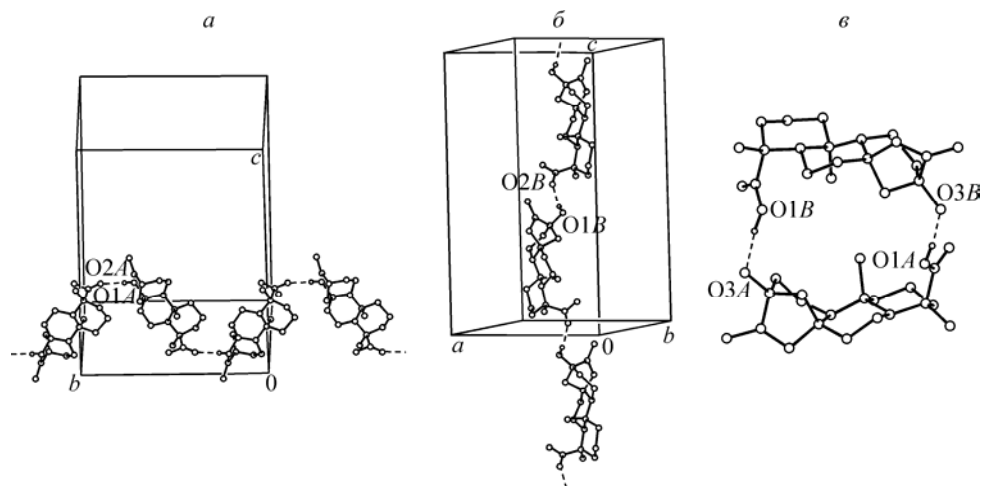


Рис. 2. Водородно-связанные цепочки молекул *A* вдоль оси *b* (*а*), водородно-связанные цепочки молекул *B* вдоль оси *c* (*б*), водородно-связанный димер молекул *A* и *B* (*в*). Показаны атомы водорода, образующие водородные связи

Поскольку соединения **3а** и **4а** изоструктурны, рассмотрим систему межмолекулярных взаимодействий на примере **3а**. Молекулы *A* связаны друг с другом посредством водородной связи в бесконечные спиралевидные цепочки вдоль кристаллографической оси *b* (рис. 2, *а*), в то время как молекулы *B* за счет аналогичного взаимодействия образуют такого же типа спиралевидные цепочки вдоль оси *c* (см. рис. 2, *б*). Интересно отметить, что взаимодействие одного и того же типа для молекул с одинаковой геометрией приводит к образованию аналогичных спиралей, различающихся только длиной витка (15,66 Å для молекул *A* (значение параметра *b*) и 21,746 Å для молекул *B* (значение параметра *c*)). Эти цепочки "сшиваются" друг с другом парными взаимодействиями молекул *A* и *B* (см. рис. 2, *в*).

Следствием одновременного проявления всех рассмотренных взаимодействий является образование молекулами 15-ен стевииола и 16-*S*-дигидростевииола трехмерного каркаса, обла-

Т а б л и ц а 1

Параметры водородных связей в кристаллах соединений **3а**, **4а**, **4б**

Связь	H...O, Å			O...O, Å			∠O—H...O, град.		
	3а	4а	4б	3а	4а	4б	3а	4а	4б
$O^{1A}-H^{1A} \dots O^{3B}$	1,84	1,80	1,80(2)	2,637(7)	2,602(5)	2,632(2)	164	165	159(3)
$O^{1B}-H^{1B} \dots O^{3A}$	1,73	1,80	1,92(2)	2,703(6)	2,703(5)	2,708(2)	163	157	161(3)
$O^{3A}-H^{3A} \dots O^{2A}$	2,09	2,19	2,11(2)	2,897(9)	2,917(7)	2,926(2)	163	159	166(3)
$O^{3B}-H^{3B} \dots O^{2B}$	2,03	2,00	2,03(3)	2,789(7)	2,807(6)	2,831(2)	154	166	164(3)

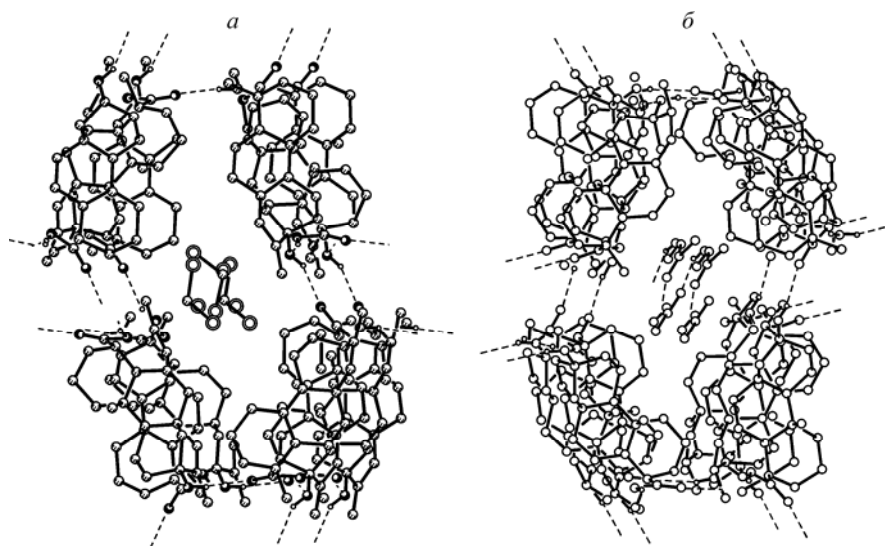


Рис. 3. Фрагмент упаковки кристалла **3a** (а) и **4b** (б), проекция на плоскость x_0 .

Показано размещение молекул растворителя в полостях трехмерного каркаса из молекул "хозяина", образованного водородными связями

дающего значительными пустотами (объем полости $811,5 \text{ \AA}^3$, что составляет 19,7 % от общего объема элементарной ячейки), представляющими собой спиралевидные каналы вдоль кристаллографической оси a (рис. 3, а), которые в рассматриваемых кристаллах **3a** и **4a** заполнены молекулами хлороформа. Расстояния между атомами молекул "гостя" и "хозяина" превышают $3,5 \text{ \AA}$, что свидетельствует об отсутствии заметного взаимодействия гость—хозяин.

Размер полостей несколько больше, чем требуется для размещения молекул трихлорметана, чем, по-видимому, и объясняется их разупорядоченность. Таким образом, трихлорметан не является самым удачным растворителем, и мы предприняли попытку кристаллизации 16(*S*)-дигидростевиола из этилацетата. В более ранней литературе [19] описано получение кристаллов 16(*S*)-дигидростевиола из этого растворителя, однако отсутствовали данные РСА и соответственно отсутствовала информация, кристаллизуется ли этот дитерпен в индивидуальном виде или тоже образует соединение включения.

Соединение **4** было перекристаллизовано из этилацетата, полученные монокристаллы **4b** изучены методом РСА. Данные РСА однозначно показали образование комплекса 2:1 молекул 16(*S*)-дигидростевиола и этилацетата **4b** (см. рис. 3, б). Система водородных связей молекул хозяина такая же, как и в описанных выше комплексах **3a** и **4a**. Что примечательно, молекулы растворителя занимают фиксированное положение внутри полых каналов и связаны друг с другом взаимодействиями С—Н...О. Взаимодействия типа гость—хозяин отсутствуют.

В масс-спектре сольвата **4b** пики ионов с m/z 320 и 88 отвечали молекулярным ионам (M^+) молекул 16(*S*)-дигидростевиола и этилацетата соответственно. При температуре системы ввода пробы в источник ионов $25 \text{ }^\circ\text{C}$ отношение интенсивностей пиков M^+ -ионов m/z 88 и 320 1,0:0,16, а при $100 \text{ }^\circ\text{C}$ — 0,08:1,0. Участок масс-спектра, полученный при температуре $25 \text{ }^\circ\text{C}$, практически полностью совпал с масс-спектром этилацетата из компьютерного каталога "NIST версия 1.6" прибора.

Таким образом, выявлена склонность дитерпенов со стевийным скелетом, обладающих немодифицированными кислотной и гидроксильной группами, кристаллизоваться из растворов полярных растворителей в виде изоструктурных соединений включения. Молекулы хозяина посредством разветвленной системы водородных связей образуют трехмерный ассоциат со спиралевидными пустотами, в которых расположены молекулы-гости. Показано преимущество использования этилацетата в качестве растворителя для кристаллизации дитерпенов со стевийным каркасом, заключающееся в образовании строго упорядоченной кристаллической структуры по сравнению с трихлорметаном.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Масс-спектры электронного удара получены на приборе TRACE MS "Finnigan MAT" при энергии ионизирующих электронов 70 эВ, температуре источника ионов 200 °С. Использовали систему прямого ввода вещества в источник ионов. Прогрев ампулы-испарителя осуществляли в программированном режиме от 25 до 150 °С с шагом 35 град./мин. Обработку масс-спектральных данных проводили с использованием программы "Xcalibur".

Рентгеноструктурный анализ выполнен в Отделении рентгеноструктурных исследований Спектро-аналитического центра коллективного пользования РФФИ (ЦКП САЦ) на дифрактометрах Smart Apex II (кристаллы **3a**, **4a**) MoK α и Каппа Apex (**4b**) при 293 К, CuK α . Структуры расшифрованы прямым методом по программе SIR [20] и уточнены сначала в изотропном, а затем — в анизотропном приближении. Гидроксильные атомы Н выявлены из разностных рядов электронной плотности, далее в структуре **4b** уточнялись, в структурах **3a** и **4a** не уточнялись. Атомы водорода при углеродных атомах помещены в вычисленные положения, уточнялись в модели "наездник". В структурах **3a**, **4a** выявлены сольватные молекулы растворителя, разупорядоченные по двум положениям с равной заселенностью; сольватная молекула в кристалле **4b** занимает фиксированное положение. Параметры кристаллов **3a**, **4a**, **4b** и условия рентгеноструктурных экспериментов приведены в табл. 2. Уточнение структур проводили с использованием программ SHELXL97 [21], WinGX [22]. Рисунки и анализ межмолекулярных контактов получены с помощью программы PLATON [23]. CIF файлы, содержащие полную информацию по исследованным структурам **3a**, **4a**, **4b**, были депонированы в CCDC под номерами 704576, 704577 и 685577, откуда могут быть свободно получены по запросу на интернет-сайте www.ccdc.cam.ac.uk/data_request/cif.

Т а б л и ц а 2

Параметры кристаллов **3a**, **4a** и **4b** и условия рентгеноструктурных экспериментов

Параметр	3a	4a	4b
Формула	CHCl ₃ ·2(C ₂₀ H ₃₀ O ₃)	CHCl ₃ ·2(C ₂₀ H ₃₂ O ₃)	C ₄ ·H ₈ O ₃ ·2(C ₂₀ H ₃₂ O ₃)
Молекулярная масса	756,25	760,28	729,02
Температура, К	293		
Сингония	Ромбическая		
Пространственная группа	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁		
a, b, c, Å	12,122(5), 15,660(5), 21,746(5)	12,2875(17), 15,566(2), 21,581(3)	12,3232(3), 15,3362(4), 21,8680(6)
V, Å ³	4128(2)	4127,7(10)	4132,86(19)
Z	8 (2 независимые молекулы)		
d _{выч} , г·см ⁻³	1,217	1,223	1,172
μ , мм ⁻¹	0,265	0,266	0,623
Область сканирования	2,28 ≤ θ ≤ 28,00	2,3 ≤ θ ≤ 28,00	4,0 ≤ θ ≤ 70,0
Измерен. отражений (R _{int})/I ≥ 2 σ (I)	37301 (0,194) / 1810	30499 (0,074) / 3847	27780 (0,027) / 6919
Число уточняемых параметров	449	455	493
R ₁ (I ≥ 2 σ (I))	0,0651	0,0883	0,0434
wR ₂ (по всем отражениям)	0,1945	0,2727	0,1291
Добротность подгонки	0,91	0,92	1,06
Макс. и мин. остаточной плотности, е/Å ³	0,239 и -0,322	0,508 и -0,618	0,362 и -0,278
Значение параметра Флака	0,1(2)	0,0(3)	0,0(2)

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Hanson J.R.* The tetracyclic diterpenes. – Oxford: Pergamon, 1968.
2. *Племенков В.В.* Химия изопреноидов. – Калининград, Казань, Барнаул: Изд-во Алт. ун-та, 2007.
3. *Hanson J.R.* // *Nat. Prod. Rep.* – 1992. – **9**. – P. 139 – 151.
4. *Phillipson J.* // *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* – 1994. – **88**. – P. 17 – 19.
5. *Hanson J.R.* // *Nat. Prod. Rep.* – 2002. – **19**. – P. 125–132.
6. *Mander L.N.* // *Chem. Rev.* – 1992. – **2**, N 4. – P. 592 – 597.
7. *Butler M.S.* // *J. Nat. Prod.* – 2004. – **67**. – P. 2141 – 2153.
8. *Kashiwada Y., Sekiya* // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2004. – **14**. – P. 5851 – 5853.
9. *De Clercq E.* // *Curr. Med. Chem.* – 2001. – **8**, N 13. – P. 1543 – 1572.
10. *Liu J., Kao P., Hsieh M. et al.* // *Acta Cardiol. Sinica.* – 2001. – **17**, N 3. – P. 133 – 140.
11. *Wong K.L., Chan P., Yang H.Y. et al.* // *Life Sci.* – 2004. – **74**, N 19. – P. 2379 – 2387.
12. *Wong K.L., Yang H.Y., Chan P. et al.* // *Planta Med.* – 2004. – **70**, N 19. – P. 108 – 112.
13. *Альфонсов В.А., Бакалейник Г.А., Губайдуллин А.Т. и др.* // *Журн. общ. химии.* – 1998. – **68**, № 11. – С. 1813 – 1821.
14. *Хайбуллин Р.Н., Стробыкина И.Ю., Катаев В.Е. и др.* // Там же. – 2009. – **79**, № 5. – С. 795 – 799.
15. *Hardy A.D.U., MacNicol D.D., Wilson D.R.* // *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2.* – 1979. – P. 1011 – 1019.
16. *Hardy A.D.U., McKendrick J.J., MacNicol D.D., Wilson D.R.* // *Ibid.* – P. 729 – 734.
17. *Gall J.H., Hardy A.D.U., McKendrick J.J.* // *Ibid.* – P. 376 – 380.
18. *Pang L., Lucken E.A.C., Bernardinelli G.* // *J. Amer. Chem. Soc.* – 1990. – **112**. – P. 8754 – 8764.
19. *Mosettig E., Beglinger U., Dolder F. et al.* // *Ibid.* – 1963. – **85**. – P. 2305 – 2309.
20. *Altomare A., Cascarano G., Giacobozzo C., Virerbo D.* // *Acta Crystallogr. A.* – 1991. – **47**. – P. 744 – 748.
21. *Sheldrick G.M.* SHELXL-97. A computer program for crystal structure determination. – University of Göttingen, 1997.
22. *Farrugia L.J.* // *J. Appl. Crystallogr.* – 1999. – **32**. – P. 837 – 838.
23. *Spek A.L.* // *Acta Crystallogr. A.* – 1990. – **46**. P. 34 – 41.