专题评述

竹红菌素的结构、性质、光化学反应及反应机制（II）

——竹红菌素的反应

蒋 丽 金

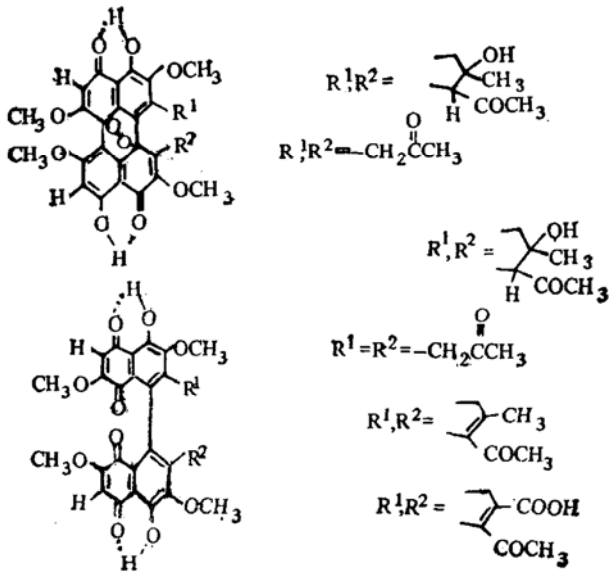
（中国科学院感光化学研究所，北京 100101）

一、自敏光氧化

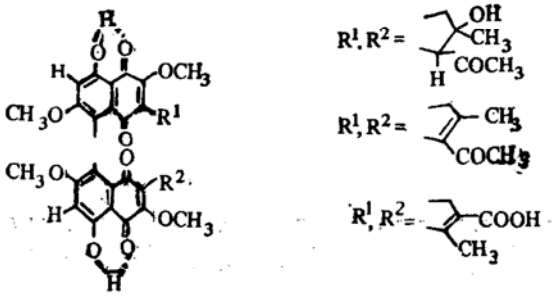
1. 反应条件 竹红菌素只有在氧和光（400—490nm）同时存在时才发生自敏光氧化反应. 但竹红菌甲素（HA）并不能与 $^1O_2$ 生成光氧化产物，而是激发态 HA 与基态氧 $^3O_2$ 反应生成产品[1].

前面提到：HA 或竹红菌乙素（HB）光敏 $^3O_2$ 产生 $^1O_2$ 的量子产率和自敏光氧化速率的比较并不平行. 这是另一证据说明 HA 或 HB 的自敏光氧化不是通过 $^1O_2$ 进行的[2].

2. HA 自敏光氧化产品[2] 可能的氧化产物包括以下的化合物：



本文 1990 年 1 月 7 日收到.



HA 自敏光氧化后，得到的主要产品可能是(2 + 2)环合加成的1,2-二氧杂环丁烷. 极小部分是(2 + 4)环合加成的内过氧化物.

3. 光敏氧化机制

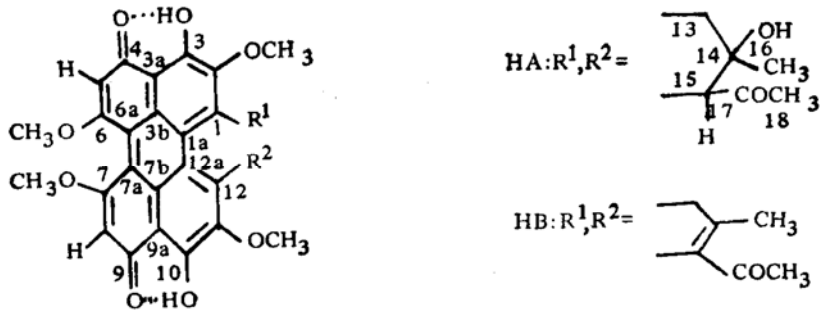
(1) 基态氧进攻激发态 HA 的 6a 和 7a 位或 1a 和 12a 位碳原子形成相应的 1, 2-二氧杂环丁烷衍生物，然后裂解形成产物，由于位阻不同，前者为主要产品，后者产率极低.

(2) 基态氧进攻激发态 HA 的 1a 位和 7a 位或 6a 位和 12a 位碳原子，形成内过氧化物，然后很快重排成相应的 1, 2-二氧杂环丁烷衍生物，随之裂解形成产物.

(3) 极小一部分仍保持(2 + 4)环合加成的产品，即内过氧化物，但这部分的产品极少. 主要产品是在 6a 和 7a 位形成的 (2 + 2)环合加成物然后裂解的化合物. 通过 ^{1}H NMR, ^{13}C NMR 和高分辨质谱分析得到验证[2,3].

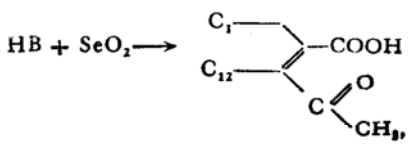
由于 HA 或 HB 在大于 600nm 区域无吸收峰，说明在一般情况下，在溶液中不存在或极少前面提到的C 和D异构体. 它们的光敏氧化主要通过(2 + 2)环合加成形成联二萘醌，而不是或很少通过(2 + 4)环合加成形成内过氧化物. 竹红菌素光敏氧化产物不具有光敏活性.

二、竹红菌素的结构修饰(热化学)[1)]

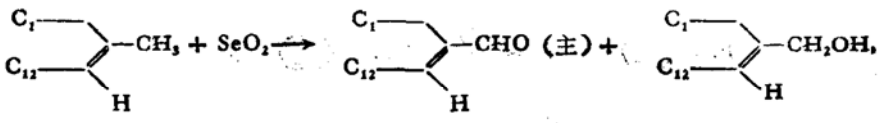


1. HB 的 2 位和 11 位甲氧基可被 $AlCl_3$ 选择性地脱去甲基 HB 的 11 位甲氧基可被 20% 发烟硫酸脱去甲基. 2 位和 11 位脱去甲基后，2 位和 3 位二羟基以及 10 位和 11 位二羟基进一步氧化为一对 α-醌.

2. SeO_2 氧化

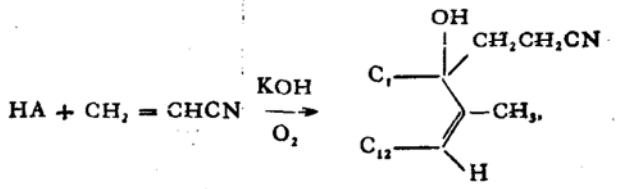


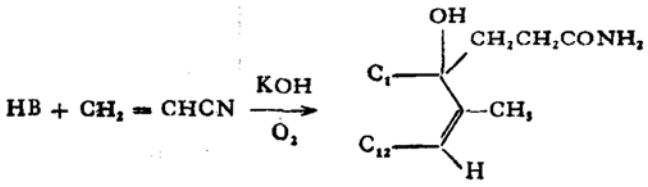
1) 赵开弘、蒋丽金，有机化学，待发表.

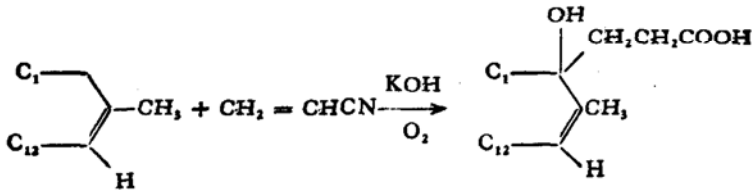


HA + SeO_2 ⟶ 难于氧化.

3. Michael 反应

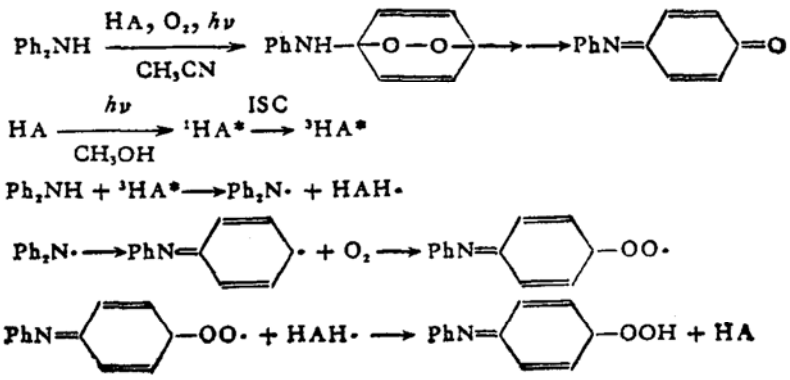


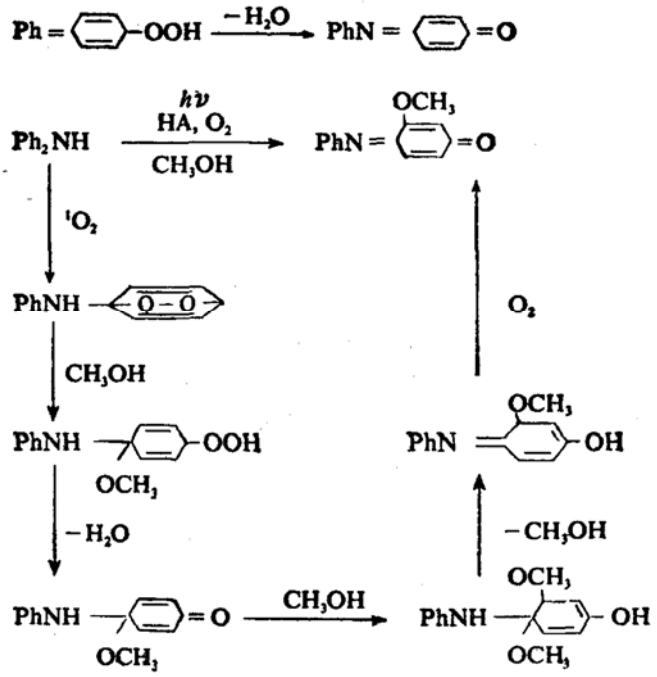




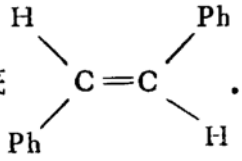
三、HA 光敏氧化二苯胺[4]

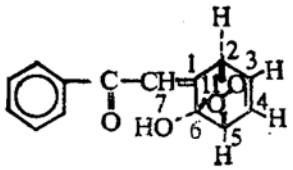
以 HA 为光敏剂，通氧，用中压钠灯，滤去< 510nm 的光，二苯胺的光氧化受溶剂的影响. 在乙腈中，二苯胺与 $^1O_2$ 反应生成 N-苯基对醌亚胺 (BPQ). 在甲醇中，占优势的是通过下列反应式而与 $^1O_2$ 无关的反应途径，生成 57% 的 BPQ. CH_3OH 也参与了部分反应，生成的 2-甲氧基-N-苯基对苯亚胺 (MBPQ) 只占 15%. MBPQ 的结构，通过 ^{1}HNMR、Raney Ni 催化加氢以及猝灭实验得以证明. 其光敏氧化机制表示如下:



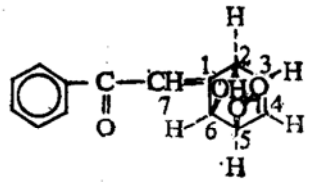


四、HA 与缺电子烯烃:反式芪（trans stilbene）的光氧化反应[5]

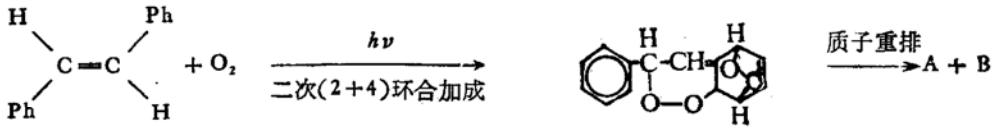
以 HA 为光敏剂. 在氯仿中以大于 470nm 的光照射，HA 可以光敏氧化缺电子烯烃,反式芪  . 主产物为 1-苯甲酰甲叉-2,5-过氧桥-6-羟基环己烯-3 的两个异构体. 它们可能是经由双桥环过氧化物的质子重排得到的.

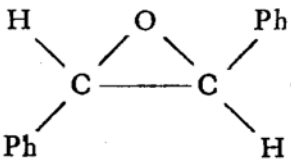


化合物 A 54.6%



化合物 B 11.7%



次要产物是苯甲醛(19.9%)和  (5.7%).

反式芪是缺电子烯烃. 一直认为难于和亲电子的 $^1O_2$ 作用. 在乙腈中反式芪被光敏氧化. HA 的荧光猝灭符合 Stern-Volmer 规律. 因此不能排除电子转移反应. 还需进一步验证.

五、HA 与一些和生物有关的金属离子的络合作用[1)]

一些作为生物酶的辅助因子，在维持生物体的新陈代谢和生长发育是不可少的金属．例如：锰、铁、钴、铜、锌、镁，都属于此类．

Co^{++}、Ni^{++}、Mn^{++}、Cu^{++} 与 HA 形成的络合物不发荧光． Mg^{++} 络合物荧光强度高于 HA 本身，其荧光量子产率增加 1.76 倍．吸收波长红移．在 614nm 处增加一吸收峰．

Mg^{++} 络合物的 ϕ^1o_2 不低于 HA 本身，而高于其它金属络合物． Zn^{++} 络合物的 ϕ^1O_2 虽比 Mg^{++} 络合物的有所提高，而荧光却较弱．

用分光光度法测 Mn^{++}、Fe^{+++}、F^{++}、Co^{++}、Cu^{++}、Zn^{++}、Mg^{++} 的络合比，均接近 1:1，在溶液中的结构，应是一种长链螯合物．

络合物的稳定性受溶液的 pH、溶剂和阴离子的影响．

当金属离子无 d 电子或 d 轨道完全充满时，络合物产生 $^1O_2$ 的能力不变或增大． 当金属离子具有未充满的 d 轨道时，络合物产生 $^1O_2$ 的量子产率显著下降，而且 ϕ^1O_2 的顺序与络合物的稳定性基本成反比．

HA 对生物组织的损伤，除光敏因素外，也可能与生物体内微量元素或基因直接作用，以抑制或提高酶的活性，影响膜的通透性和传输功能等．此外，作用产物也可能作为新的光敏剂，导致生物体进一步作用或造成损伤．

六、取代反应(包括光化学反应和热化学反应)

1. 卤(氯和溴)代反应[2)] 是在室温下暗中进行的亲电取代反应．

(1) 溴代反应是亲电取代反应． HA 在冰乙酸和丙酮的溶液中加溴进行反应． 取代了 C5 位或/和 C8 位的氢．不受光及2,6-二特丁基苯酚 (DBP) 的影响

(2) 氯代反应．除亲电取代反应之外，有一部分是自由基反应．以氯仿为溶剂，在室温下进行反应，可被 DBP 部分抑制．

由 HA 所得 C5 位或/和 C8 位卤代产物的 ϕ_1O_2 大于 HA 本身的 ϕ_1O_2． 难以自敏光氧

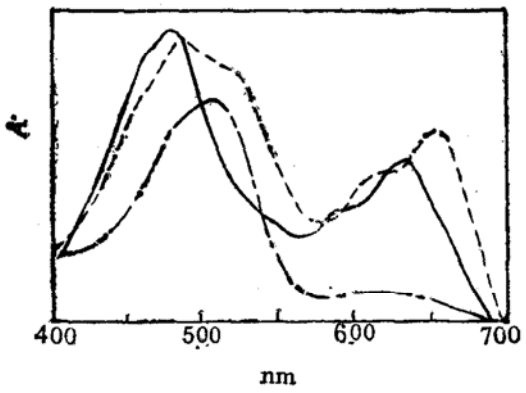


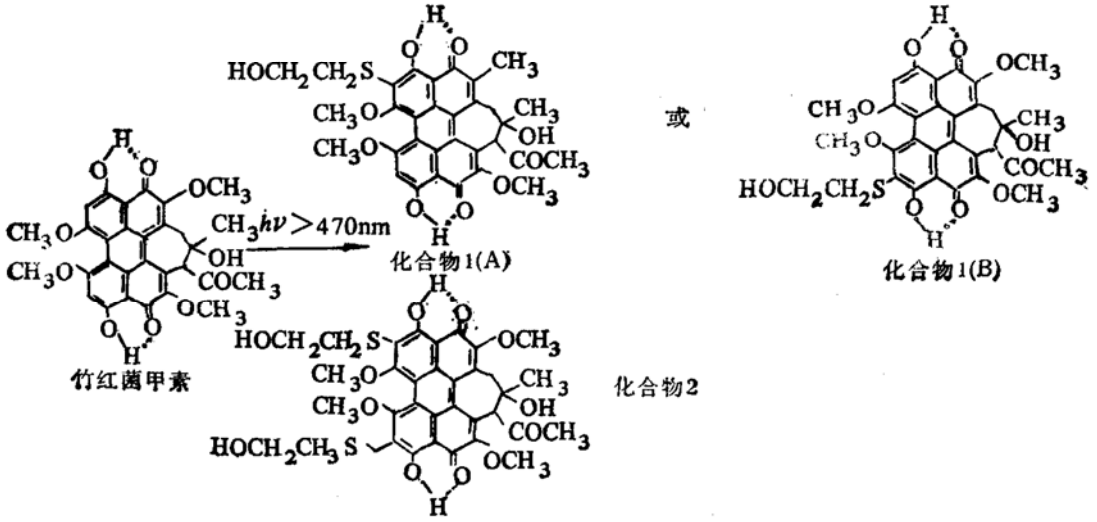
图 1 竹红菌素和 RSH 在 pH11 的甲醇-水缓冲溶液中的反应曲线
充氩密闭，以 >470nm 的光照射，得到中间体．——甲素的吸收光谱；
—·—中间体； -----产品

1) 马俊宁，博士论文，1988，48—68.
2) 刘卫，硕士论文，1988，13—20.

化．有更高的光动力活性和光稳定性．由于重原子效应，系间窜越效率和三重态量子产率会有所提高．可见光吸收比 HA 大，具有更高的光动力活性．

2. 和巯基化合物的反应　包括巯基乙醇、半胱氨酸、巯基乙酸、ω-巯基正辛醇、巯基乙胺．

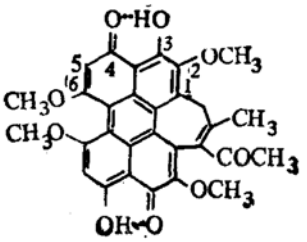
（1）巯基乙醇，半胱氨酸与 HA 或 HB 的反应．在 pH9—10 的甲醇缓冲溶液中，室温进行，以＞470nm 的光照射反应物，在 1min 内完成（图 1）[6]．在暗中需较长时间放置，也能引起反应[1]．第一步反应可能是 R-SH 对 C5 位或/和 C8 位的亲核加成反应．第二步为脱氢反应，必须有氧参加．DMSO 等强极性偶极溶剂促进此反应．产品为 C5 位或/和 C8 位取代物．产品中还有 C2 位或/和 C11 位脱甲基后的化合物．



在上述光化学反应的同时在 CH_3OH-H_2O（1:3V/V）pH 11.37 中一部分 R-SH 形成 R-S-S-R．通过 HA 或 HB 的光敏作用（能量传递）由 $^3O_2$ 产生 $^1O_2$，再和 RSH 作用．因此竹红菌素对生物体的作用包括热化学与光化学的共同作用．

（2）巯基乙酸、正辛硫醇与 HB 的反应[2]．反应在室温和弱碱的 DMSO 溶液中进行，得到和上述类似的产物．

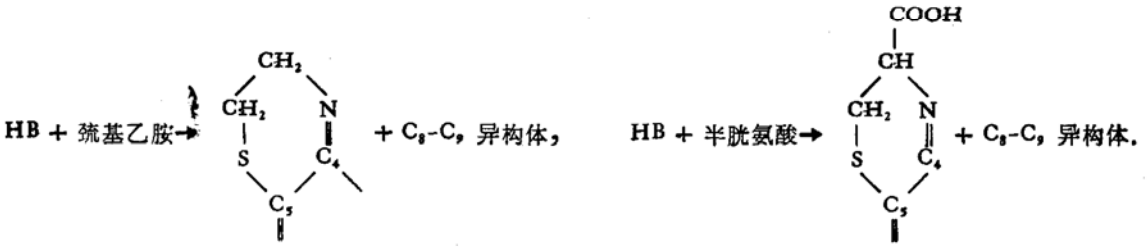
（3）巯基乙胺、半胱氨酸与 HB 的反应[2]．在室温和弱碱的 DMSO 溶液中进行的暗反应，除得到上述的类似产物外，还得到产品进一步缩合的化合物．它们的吸收光谱移向长波方向（＞600nm），说明其骨架如下式所示：



1）刘卫，硕士论文，1988，21—28．

3）马良、张曼华、蒋丽金，未发表工作，1989．

此外，C5 或 C8 取代基中的氨基还与 C4 或 C9 的醌羰基脱水环合如下所示：



在动植物体内，新陈代谢、皮肤病、癌症等都涉及各种含巯基蛋白、酶和核蛋白等. 因此 -SH 基的增减和体内的生理作用是息息相关的.

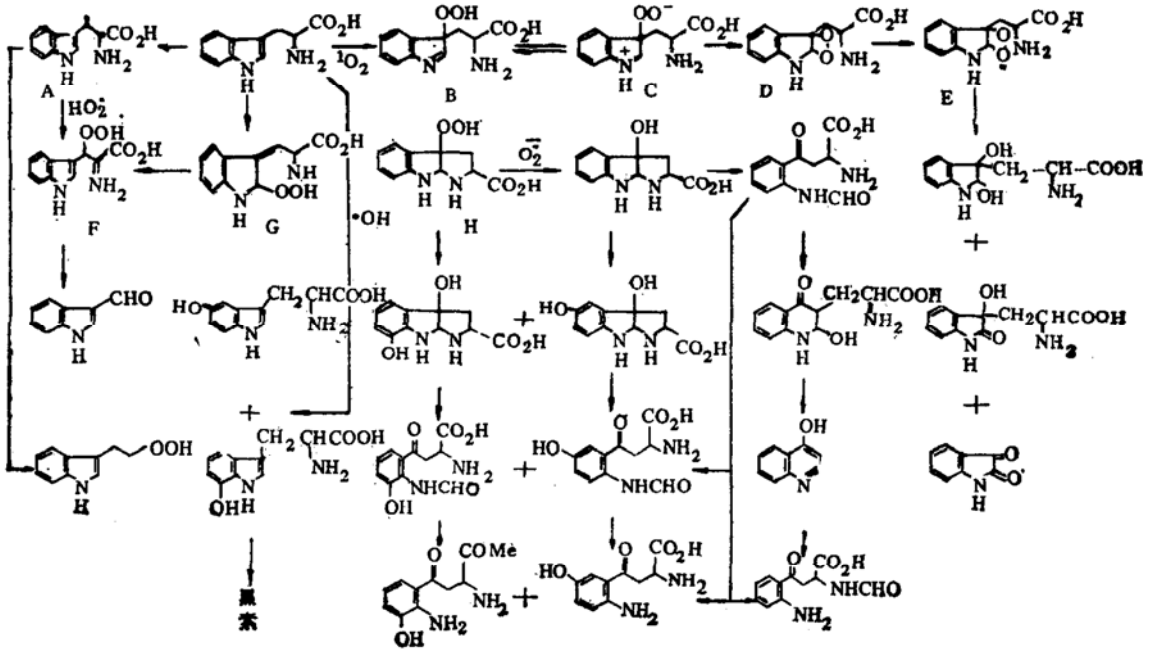
七、HA 光敏氧化吲哚类化合物的研究

(1) 通过吸收光谱、荧光光谱的研究，说明在一定条件下，HA 和吲哚类化合物形成带有电荷转移性质的复合物. 吲哚环上的给电子取代基、极性大的溶剂、中性的溶液都有利于复合物的形成. 复合物的形成使 HA 的吸光能力增强. HA 的极性和水溶性增强，更易于接近底物而富集了底物，达到定向的目的. 同时阻止了 HA 的自敏光氧化，提高了光疗作用[7].

(2) HA 光敏氧化作为模型化合物的吲哚，通过猝灭剂 DABCO，说明反应主要通过单重态氧过程进行. "ene" 反应占优势. 也可进行(2 + 2)环合加成，形成二氧杂环丁烷 (dioxetane) 衍生物. 吲哚的光敏氧化与 2-取代吲哚有些类似，而与 3-取代吲哚则有所不同. 溶剂对产物分布也有一定影响[8].

(3) 用吸收光谱、荧光光谱，闪光光解，猝灭实验、氘代效应和溶剂效应，初步探讨了光敏氧化色氨酸的反应机制. 在底物浓度与溶解氧浓度相当的条件下，反应以 II 型为主，I 型为辅. 反应受底物浓度、溶解氧浓度、溶剂性质和溶液的 pH 值的影响比较突出[9].

(4) 经过分离和鉴定 HA 光敏氧化色氨酸的产物，可以说明这是一个既涉及单重态氧又涉及电子转移的复杂过程，反应以单重态氧过程占优势. 反应中得到的黑素有力地说明 HA 对皮肤病的光疗机制. 反应过程如下[10]:



(5) HA 光敏氧化四氢咔唑(可看做 2, 3-位双取代吲哚衍生物)和 N-甲基四氢咔唑（可看做是 1, 2, 3-位三取代吲哚衍生物)。 除通过 $^1O_2$ 外，还可通过自由基过程和一些次级反应。HA 经过光照不仅产生 $^1O_2$，还产生其它活泼态氧（例如: O^{-}_2, ·OH, H_2O_2 等)和有机自由基(例如 HA^{-})。这就使得反应除了 $^1O_2$ 的主要作用外，自由基过程也起着相当重要的补充作用。吲哚类的氧化产物可能对甲素光敏化蛋白交联起作用[1]。

八、HB 光敏氧化生物碱基模型化合物

在两种生物碱基嘧啶碱和嘌呤碱中，HB 较易光敏氧化嘌呤碱。

(1) 四甲基取代尿酸（TMUA）在甲醇溶剂中,以＞470nm 波长的光照射并通氧,以 HB 为光敏氧化剂。 通过氧化还原电位的测定和不同猝灭剂的实验，确定反应机制是: 激发态 HB 和 TMUA 通过电子转移生成 $TMUA^{+}$ 和 HB^{-}, HB^{-} 再与 $^3O_2$ 作用产生 O^{-}_2。 最后生成产物[11]。

(2) 咖啡碱（Caffeine）与茶叶碱（theophylline）分别与甲醇、乙醇或异丙醇,在高压钠灯照射下（＞510nm)，经由 HB 光敏氧化,得到8-烷氧基咖啡碱和 8-烷氧基茶叶碱。反应在重氢溶剂中比在非重氢溶剂中快 7 倍，不受氧偏压的影响。反应可被 NaN_3 猝灭，证明活性氧化剂是 $^1O_2$，可能形成过氧化中间体[12]。

九、竹红菌素反应中间体的顺磁共振（ESR）的研究

(1) 通过 ESR 光谱检测到竹红菌素及其巯基乙酸取代产物的光诱导还原的负离子自由基信号。也观察到它们的未经光照(基态)但加氨水或脂肪胺(尤其是二乙胺)经电子转移还原的自由基 ESR 信号(图 2)。 这个信号和竹红菌素通过电化学还原得到的 ESR 信号完全相同。

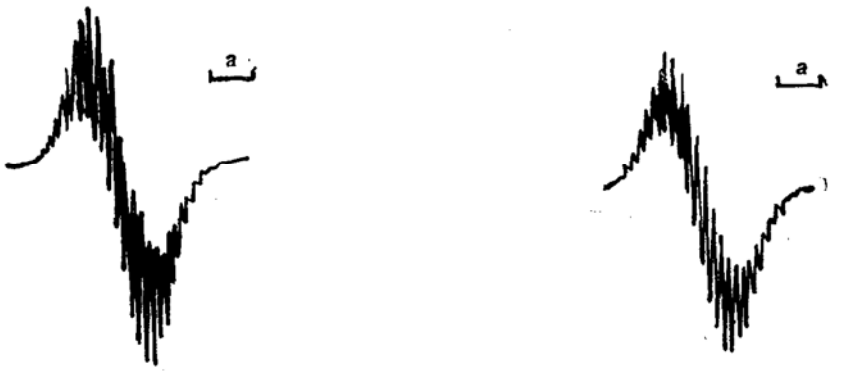


图 2

左图: HB5×10⁻⁴mol/L, DMSO 溶液，Xe 灯光照 30s, a 为 1.25×10⁻⁴T；

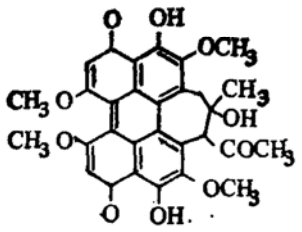
右图: HB 4×10⁻⁴mol/L, DMSO 溶液加少量二乙胺，a 为 1.25×10⁻⁴T

因此确证这个自由基信号是半醌负离子自由基信号[2),3)]。其结构如下:

1) 第五振军,博士论文，1988.

2) 马良、张曼华、蒋丽金,未发表工作，1989.

3) 王志军、张曼华、蒋丽金,未发表工作，1990.



甲素半醌负离子自由基

在紫外可见的吸收光谱中也出现了半醌负离子自由基以及竹红菌素与脂肪胺或 Na_2CO_3 溶液之间由于相互作用引起的吸收光谱变化的情况(图 3)[8].

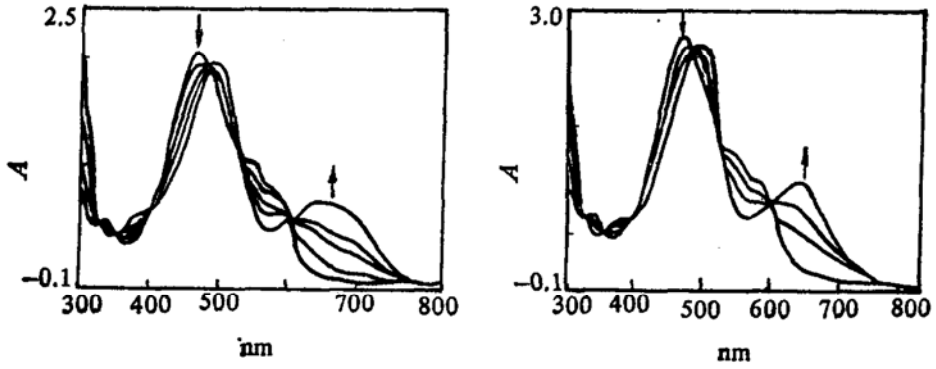


图 3

左图: HB 1.0×10^{-4}mol/L 的 DMSO 溶液 2ml, 加 0、0.03、0.10、5、20μl 40% NH_4OH;
右图: HB 1.3×10^{-4}mol/L 的 DMSO 溶液 2ml, 加 0、20、40、100μl, 0.1mol/L Na_2CO_3 水溶液

(2) 在脱氧的含半胱氨酸或抗坏血酸的竹红菌素的 DMF 溶液中(pH 8.5 缓冲液),同样

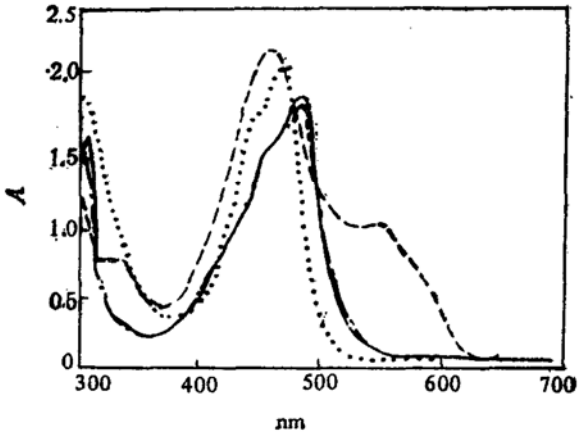
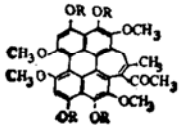


图 4 等浓度的 HB(1×10^{-4}mol/L) 在含 CH_3OH 的缓冲溶液中 (pH7.0)
——加抗坏血酸 (5×10^{-3}mol/L) 光还原产物的光谱; —·—·—在冰乙酸和锌的体系中热化学还原产物的光谱; ----HB 的光谱; ……还原 HB (用乙酐-锌)乙酰化的产品的光谱. 其产品结构如下:



R═H 或 $CH_3\overset{\overset{O}{\|}}{C}-$

地获得光诱导还原产生的半醌负离子自由基的(和上述一样的) ESR 信号(图 4)[1].

在图 4 中比较了在不同情况下的吸收光谱.

下面是 HB 在 DMF 缓冲液中, pH8.5 光诱导产生 $HB^{\cdot-}$ 后,暗中放置, 观查光谱随时间变化的情况(图 5).

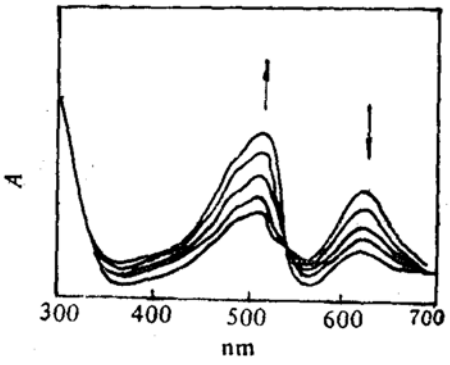


图 5

每隔 10min 钟测一次吸收光谱

(3) 在前面提到的巯基乙醇或半胱氨酸与竹红菌素的反应中. 也有可能在碱性溶液中的竹红菌素和巯基化合物 RS^- 发生单电子转移生成 $HA^{\cdot-}$ 或 $HB^{\cdot-}$ 和 RS.. RS. 和 HA 或 HB 进行自由基取代反应得到产物. 氧 ($^3O_2$) 可以猝灭 $HA^{\cdot-}$ 或 $HB^{\cdot-}$ 或它们的取代衍生物的半醌负离子自由基.

以上对 HA 和 HB 的结构特征、异构现象、立体化学、结构修饰、光物理和光化学性质、光谱的归属、自敏光氧化机制、光动力作用、HA 与不同金属离子的络合作用、热化学与光化学反应等做了一个较为系统的综述. 由以上的各个方面,结合生物物质反应的活性部位,为竹红菌素的光疗机制提供了有益的信息. 在应用方面以及活性中间体的深入探索还需做进一步的工作.

参 考 文 献

[1] 张曼华、安静仪、倪志杰等,科学通报, **29**(1984), 18: 1117—1120.

[2] 赵开弘、蒋丽金,科学通报, **34**(1989), 17: 1311—1315.

[3] 赵开弘、蒋丽金、孙贤育,科学通报, **32**(1987), 20: 1559—1561.

[4] 马俊宁、张曼华、安静仪等,中国科学, B 辑, 1987, 9: 933—939; Ma Junning, Zhang Manhua, An Jingyi et al., *Scientia Sinica*, Series B, 1988, 4:411—418.

[5] 安静仪、张曼华、吴国永等,中国科学, B 辑, 1985,11: 975—982.

[6] 安静仪、蒋丽金,科学通报, **34**(1989), 7: 514—517; An Jingyi, Jiang L'ijin, *Chinese Science Bulletin*, **34** (1989), 20:1694—1698.

[7] 第五振军、张曼华、蒋丽金,感光科学与光化学, 1988, 3: 26—31.

[8] 第五振军、张曼华、蒋丽金,科学通报, **33**(1988), 16: 1239—1242; Diwu Zhenjun, Zhang Manhua and Jiang Lijin, *Chinese Science Bulletin*, **34**(1989), 8:645—650.

[9] 第五振军、张曼华、蒋丽金,化学学报, **47**(1989), 246—252.

[10] 第五振军、张曼华、蒋丽金,科学通报, **33**(1988), 13: 997—1000; Diwu Zhenjun, Zhang Man Hua and Jiang Lijin, *Chinese Science Bulletin*, **34**(1989), 5:401—406.

[11] 王志军、蒋丽金,物理化学力学进展, 1990, 2.

[12] Wang Zhijin, Jhiang Lijin, Zhang Manhua, in *Advances in Photochemistry* (Eds. Zhang Baowen, Tung Chenho, Wu Shikang), International Academic Publishers, 1989, 369—370.

1) 静安仪、赵开弘、蒋丽金,未发表工作.