中 国 科 学
1992 年 3 月　　A 辑　　第 3 期

用核磁共振分子图形法研究可待因分子的三维结构*

毛诗珍　许肖龙　袁汉珍　王国玺
杨延武　蒋大智**　王德华
(中国科学院武汉物理研究所波谱与原子分子物理开放研究实验室，武昌 430071)

摘　要

本文由一维和二维核磁共振测定结果，并通过计算，得到了可待因分子在溶液中的三维结构，其特点是将核磁共振技术提供的信息经过处理用作为分子力学能量计算的基础。所得结果及分子图形与X射线衍射法比较，有较好的一致性。此法对研究天然产物，特别是刚性结构的化合物在溶液中的构型和构象具有较为广泛的应用价值。

关键词：核磁共振，分子力学，分子构象，分子图形

一、引　言

目前，核磁共振是研究溶液中分子构象最有力的工具。由 NMR 高分辨技术和二维核磁共振技术的飞速发展，人们亦可以得到有关溶液中分子构象的许多信息。例如，不同的耦合常数反映出原子连结不同的二面角；二维 NOESY 谱可以检测到 3—5 Å 以内两个氢原子间的距离。我们曾报道过用一维和二维核磁共振谱研究吗啡（Morphine）和可待因（Codeine)的分子构型[1,2]，求出了一套完整的吗啡和可待因质子耦合常数，用一系列改性的 Karplus 公式计算了二面角。为了更直观地研究分子在溶液中形态，得到类似于X射线衍射的结构数据，曾编制计算机程序 WUPH，将求得的二面角作为分子模型的主要依据，并结合标准键长、键角[1)]数据，计算出分子内各原子的空间坐标。从平面投影图可清楚看出吗啡和可待因分子中含有一个船式环和一个椅式环。但与X射线衍射法算得的结果相比较，尚有相当于～1 Å的误差。

近年来分子力学作为一种经验方法，借助于计算机技术，被广泛应用于研究有机和生物分子结构。从几何距离法结合二维 NOESY 谱测得的距离，可得到分子最低能量的优化结构[3]。但是，在进行分子力学模型计算时采用了X射线晶体衍射数据作初始坐标[4]，所以这个方法具

本文 1990 年 12 月 1 日收到，1991 年 4 月 12 日收到修改稿。
* 国家自然科学基金资助项目。
** 客座教授，中国科学院北京化学研究所研究员。
1) 物理化学手册提供的标准数据表。

有一定的局限性. 而 2D NOESY-NMR 谱数据的信息量也有限, 这使得分子力学计算中开头关键的一步——初始坐标的建立仍有一定困难. 本文采用测定 NMR 耦合常数方法, 求出相应的二面角, 在此基础上算出分子中比较接近实际的原子的空间位置, 并将此作为初始坐标进行分子力学计算, 较好地解决了以往运算量大和误差偏大的问题. 对于像可待因这样的刚性分子, 所得结果与 X 射线衍射数据有相当好的可比较性.

二、实 验

用可待因碱配成氘代甲醇溶液. 甲醇-d_4的氘纯度为 99.5%, 溶液浓度为 60 mg/ml. 测试试样均进行充氮去氧处理, 封入 5mm NMR 样品管中.

相敏 NOESY 谱测试在 BRUKER MSL-400 核磁共振谱仪上进行, 质子观察频率是 400.13 MHz, 探头温度为室温, CD_3OD 内锁, 以 TKS[5] 为内标. 相敏 NOESY 谱的脉冲序列是

$$90^\circ - t_1 - 90^\circ - t_m - 90^\circ,$$

延迟时间为 2s, t_1 的初值是 10μs, 混合时间 t_m 为 2s. 累加 256 个 FID, 每个含 1k 数据点. F_1 和 F_2 方向都用 Sine bell 函数, 然后进行二维 Fourier 变换.

质子间距离计算公式

$$(\text{距离}_{ab})^6 = \frac{\text{NOE 积分值}_{\text{已知}} \times (\text{D}_{\text{已知}})^6}{\text{NOE 积分值}_{ab}}.$$

计算分子坐标的 WUPH 程序用 FORTRAN 语言编写. 分子力学计算用改进了的 MM2 程序. 分子结构图用 ORTEP 程序在 CALCOMP 1043 型绘图仪上绘制. 用 VAX-11/785 计算机计算.

三、结果与讨论

在解决可待因氢谱的全部谱线归属后求出了该分子的耦合常数 (见表 1)[1,2]. 我们曾将 Karplus 公式进行了重排, 得到以下五个公式, 可由此从标量耦合常数计算出二面角[3]:

$$\cos\phi = \frac{0.5 \pm \sqrt{18.25 + 36^3J}}{18}, \tag{1}$$

$$\cos\phi = \frac{1 \pm \sqrt{40^3J - 79}}{20}, \tag{2}$$

$$\cos\phi = \pm\frac{1}{2}\sqrt{^3J - 2.6}, \tag{3}$$

$$\cos\phi = \pm\frac{1}{2}\sqrt{\frac{^3J}{1 - \sum_{i=1}^{2} f_i\Delta X_i} - 2.6}, \tag{4}$$

$$\cos\phi = \frac{1 \pm \sqrt{1 - 4 \times 11.2 \times \left(1 - \dfrac{^3J}{1 - \sum_{i=1}^{4} f_i\Delta X_i}\right)}}{22.4}. \tag{5}$$

(1)式为从量子力学推导的 Karplus 公式[6], (2)式为改进了的 Karplus 公式, (3)式用来计算

表 1　可待因的^1H-^1H 耦合常数和二面角计算值

耦合类型	耦合常数 (HZ)	二　面　角	二面角计算值(°)
$^3J(1,2)$	8.2	H_9-C_9-C_{10}-$H_{10\alpha}$	41
$^3J(5,6)$	6.1		
$^3J(6,7)$	2.7	H_5-C_5-C_6-H_6	20
$^3J(7,8)$	9.9		
$^3J(8,14)$	3.0	H_8-C_8-C_{14}-H_{14}	106
$^3J(9,14)$	3.2		
$^3J(9,10\alpha)$	6.2	H_6-C_6C_7-H_7	106
$^3J(9,10\beta)$	0		
$^2J(10\alpha,10\beta)$	19.0	$H_{15\alpha}$-C_{15}-C_{16}-$H_{16\alpha}$	45
$^2J(15\alpha,15\beta)$	12.8		
$^3J(15\beta,16\beta)$	1.8	$H_{15\beta}$-C_{15}-C_{16}-$H_{16\beta}$	52
$^3J(15\beta,16\alpha)$	3.6		
$^3J(15\alpha,16\alpha)$	12.7	$H_{15\alpha}$-C_{15}-C_{16}-$H_{16\alpha}$	170
$^3J(15\alpha,16\beta)$	5.2		
$^2J(16\alpha,16\beta)$	5.4	H_9-C_9-C_{14}-H_{14}	48

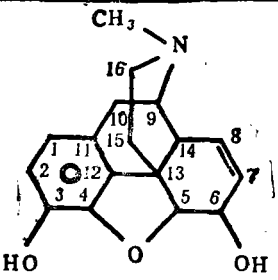


表 2　几种不同方法计算氢原子间距离比较

质子对	氢原子间距 (Å)					相对误差*(%)			
	X射线衍射	WUPH 计算	WUPH + SIMPLEX	WUPH + MM2	相敏 NOESY 谱	WUPH 计算	WUPH + SIMPLEX	WUPH + MM2	相敏 NOESY 谱
10-H_α 和 10-H_β	1.50	0.85	2.00	1.78	1.84	43	33	19	23
15-H_α 和 15-H_β	1.71	1.96	1.95	1.79	1.98	15	13	4.7	16
16-H_α 和 16-H_β	1.63	1.78	1.78	1.79	1.99	9.2	9.2	9.8	22
5-H 和 6-H	2.18	1.27	2.07	2.33	2.11	42	5.0	6.9	3.2
7-H 和 8-H	2.32	1.59	2.41	2.45	2.11	31	3.9	5.6	9.1
8-H 和 9-H	2.64	2.86	1.92	2.63	2.36	8.3	27	0.38	11
6-H 和 14-H	2.78	3.13	2.48	2.93	2.40	13	11	5.4	14
5-H 和 15-H_α	2.45	3.40	2.82	2.51	2.59	39	15	2.4	5.7
5-H 和 15-H_β	2.45	3.52	2.95	2.62	2.42	44	20	6.9	1.2
6-H 和 7-H	2.80	2.06	3.01	2.77	2.41	26	7.5	1.1	14
8-H 和 14-H	2.64	2.78	2.84	2.84	2.64	5.3	7.6	7.6	0.0
9-H 和 10-H_β	2.32	1.43	2.45	2.74	2.06	38	5.6	18	11
9-H 和 14-H	2.30	2.84	2.36	2.48	2.37	23	2.6	7.8	3.0
14-H 和 15-H_α	2.52	3.06	2.97	2.59	2.25	21	18	2.8	11
15-H_α 和 16-H_α	2.50	2.77	2.63	3.09	2.63	11	5.2	24	5.2

* 相对误差系指 WUPH 计算、WUPH + SIMPLEX、WUPH + MM2 和相敏 NOESY 谱与X射线衍射法计算氢原子间距离值之间的偏差.

烯丙基中的二面角。当有电负性取代基连在烯丙基上时，采用(14)式，ΔX_i 是取代基 i 与氢原子电负性之差，二面角在 0°—90° 之间时，$f_i = 0.05$；二面角在 90°—180° 之间时，$f_i = 0.15$。当电负性基团在烷基二面角上时，则用(5)式计算二面角[7]。

用以上各式求出可待因的二面角值列于表 1[6]。

将以上二面角数据和标准键长、键角输入计算机，首先求出了分子内各原子的空间坐标及原子间距离。由于吗啡和可待因是刚性分子，分子在结晶状态与溶液状态中的二面角、质子间距离基本相同，只是 C3 上取代基有所不同，分别为羟基(OH)和甲氧基 (OCH_3)。表 2 和表 3 列出了 WUPH 程序算得的可待因和 X 射线衍射实验得到的吗啡的键长、键角、二面角及质子间距离。可以看出，误差比较大。原因主要来自耦合常数 J 测定的误差和二面角计算公式是经验公式。

为了解决以上误差问题，用分子力学 MM2 程序进一步计算，得到了最低能量优化的结构参量。具体的作法是将 WUPH 所得的原子坐标直接作为 MM2 程序初始坐标进行运算。计算结果示于表 2 和表 3。与 X 射线衍射数据比较可知，两者的键长、键角基本相等，二面角相差最大值为 8°，质子间距离偏差在 0.5 Å 以下(相对误差大多在 10% 以内)，这说明此方法计

表 3 三种方法计算分子键参数比较

特征键长(Å)	WUPH 计算	X 射线衍射	WUPH + MM2	特征键角(°)	WUPH 计算	X 射线衍射	WUPH + MM2
C1—C2	1.39	1.38	1.34	C1—C2—C3	120	122	123
C1—C11	1.39	1.39	1.34	C2—C3—C4	120	116	116
C2—C3	1.39	1.40	1.35	C2—C3—O20	110	123	126
C3—C4	1.39	1.39	1.35	C4—C3—O20	130	123	119
C3—O20	1.43	1.36	1.37	C3—C4—C12	120	122	121
C4—C12	1.39	1.37	1.33	C3—C4—O24	129	124	127
C4—O20	1.43	1.38	1.36	C12—C4—O24	110	113	112
C5—C6	1.56	1.53	1.54	C6—C5—C13	109	113	112
C5—C13	1.56	1.55	1.55	C6—C5—O24	134	110	112
C5—O24	2.29	1.47	1.44	C13—C5—O24	86	106	105
C6—C7	1.56	1.51	1.51	C5—C6—C7	109	113	114
C6—O21	1.43	1.41	1.42	C5—C6—O21	110	113	111
C7—C8	1.36	1.31	1.34	C7—C6—O21	109	109	112
C8—C14	1.16	1.50	1.51	C6—C7—C8	120	121	121
C9—C10	1.56	1.56	1.55	C7—C8—C14	96	120	121
C9—C14	1.56	1.53	1.55	C10—C9—C14	109	113	112
C9—N17	2.35	1.48	1.47	C10—C9—N17	85	115	113
C10—C11	1.46	1.52	1.51	C14—C9—N17	100	108	108
C11—C12	1.39	1.37	1.33	C9—C10—C11	124	115	114
C12—C13	1.56	1.51	1.50	C1—C11—C10	122	124	124
C13—C14	1.56	1.54	1.53	C1—C11—C12	120	117	116
C13—C15	1.56	1.53	1.54	C10—C11—C12	118	118	120
C15—C16	1.56	1.53	1.53	C4—C12—C11	120	122	124
C16—N17	1.47	1.47	1.46	C4—C12—C13	118	110	110
N17—C18	1.47	1.48	1.46	C11—C12—C13	120	127	126

表 3（续）

特征键长(Å)	WUPH 计算	X射线衍射	WUPH + MM2	特征键角(°)	WUPH 计算	X射线衍射	WUPH + MM2
C5—C13—C12	109	100	98	C5—C13—C12—C11	−150	−154	−160
C—5C13—C14	97	116	119	C6—C5—C13—C12	105	100	97
C5—C13—C15	109	113	111	C7—C6—C5—O24	69	90	93
C12—C13—C14	109	106	106	C7—C8—C14—C13	−78	−39	−38
C12—C13—C15	105	113	111	C8—C7—C6—O21	170	161	165
C14—C13—C15	126	109	110	C8—C14—C9—C10	72	51	58
C8—C14—C9	67	114	115	C8—C14—C13—C12	−26	−63	−62
C8—C14—C3	124	110	108	C9—C10—C11—C12	−9	0	0
C9—C14—C13	109	107	106	C9—C14—C13—C12	60	61	62
C13—C15—C19	109	112	112	C9—N17—C16—C15	50	57	55
C15—C16—N17	108	111	111	C10—C9—C14—C13	−50	−63	−62
C9—N17—C16	114	112	113	C10—C9—N17—C16	66	62	62
C9—N17—C18	104	113	114	C10—C9—N17—C18	−52	−63	−68
C16—N17—C18	108	110	112	C11—C10—C9—C14	25	31	29
C4—O24—C5	102	106	107	C11—C10—C9—N17	−74	−93	−94
二面角(°)				C11—C12—C13—C14	−45	−33	−36
C1—C2—C3—O20	180	−172	−178	C11—C12—C13—C15	92	86	84
C1—C11—C10—C91	175	−169	−177	C12—C4—C3—O20	180	175	180
C1—C11—C12—C3	−165	173	−179	C12—C13—C5—O24	−31	−21	−25
C2—C1—C11—C10	176	168	176	C12—C13—C15—C16	−55	−63	−65
C3—C4—C12—C13	165	−174	179	C13—C14—C9—N17	39	65	64
C4—C12—C13—C5	45	14	19	C13—C15—C16—N17	−60	−52	−49
C4—C12—C13—C14	150	135	142	C14—C9—N17—C16	−43	−64	−64
C4—C12—C13—C15	−73	−106	−98	C14—C9—N17—C18	−161	171	166
C4—C24—C5—C6	−93	−102	−98	C14—C13—C5—O24	−144	−135	−138
C4—O24—C5—C13	20	21	24	C15—C16—N17—C18	165	−177	−173
C5—C6—C7—C8	50	42	37	O20—C3—C4-024	12	4	5

算结果是合理的，而直接由 WUPH 计算与未经 MM2 计算的结果尚有 20% 的相对误差。

二维 NOESY 谱是研究分子在溶液中构象的重要手段，无论是刚性分子还是链状分子，它都能给出氢原子间偶极交叉弛豫的信息，测出 3—5 Å 范围以内氢原子间的空间距离。我们曾报道用 2D NOESY 谱分析吗啡的构型和氢谱[2]，但幅度谱不足以定量计算距离。本工作测定了可待因二维相敏 NOESY 谱(图 1)。用测定积分面积方法计算出质子对的距离，结果见表 2。可以看出，NOESY 谱得到的氢原子间距与 X 射线衍射数据很接近（相对误差在 10% 左右），MM2 计算结果与 NOESY 谱结果也比较接近。通常遇到的情况是所研究的分子缺乏 X 射线衍射数据，或者晶体 X 射线衍射数据与液体状态有较大差别。此时，则直接将 WUPH 程序计算结果与 NOESY 数据相比较，如果误差较大，可用 SIMPLEX 迭代法，使计算结果与 NOESY 数据相符[8]。这种方法的计算结果也列于表 2。经 WUPH + SIMPLEX 程序计算，质子对距离不仅与 NOESY 实验结果符合较好，而且与 X 射线衍射数据的误差也减小了（相对误差大多在 10% 左右）。因此用这种方法可以方便地算出分子三维结构，并保证一定的精度。我们认为，在以上两种方法的基础上再用 MM2 分子力学计算便可得到更高精度的分子结构数据。

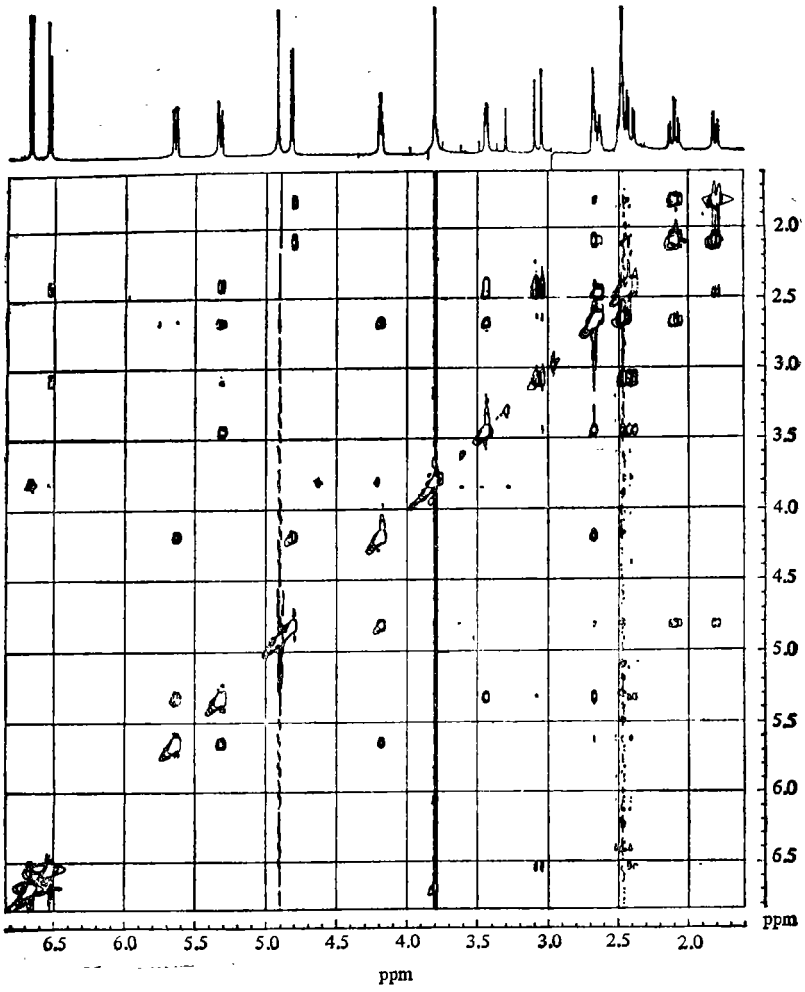
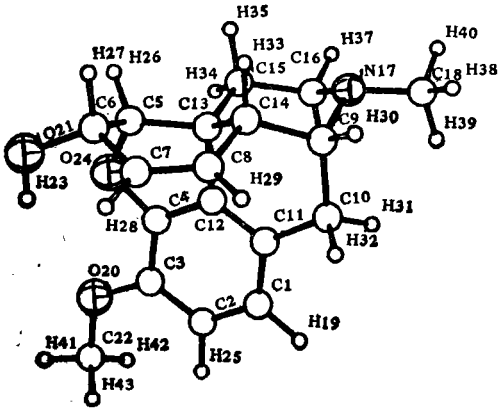
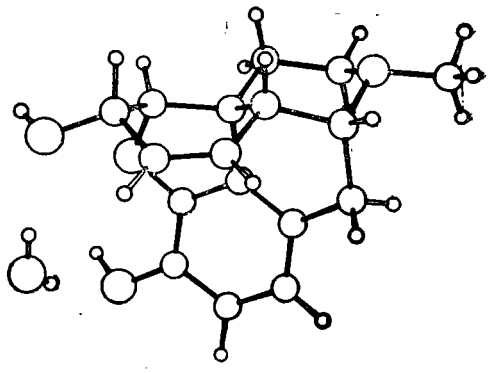


图 1 可待因二维相敏 NOESY 谱



(a)可待因最低能量结果



(b)吗啡 X 射线衍射结构

图 2 可待因和吗啡构象的三维图

由于计算机技术的发展，使我们能从原子坐标数据迅速得到分子结构的三维立体图。图 2 是吗啡的X射线衍射结构图以及可待因的 WUPH + MM2 计算三维分子图形。可以看出，两者基本一致，分子中船式(环 D)和椅式(环 E) 构象明显地呈现出来，环 A,B,C 基本上处于同一平面。

我们将以上由核磁共振数据出发，用计算机得到分子结构参量和图形的方法称为核磁共振分子图形法。本文提出的方法对研究天然产物，特别是刚性结构化合物在溶液中的构型和构象具有较大的应用价值。随着核磁共振分子图形法精度的提高，它将弥补X射线衍射法的不足。对于不能培养出单晶的有机化合物结构测定更是具有重要意义。

本工作得到杨代文、吴冬辉同志帮助，谨此致谢。

参　考　文　献

[1] 王德华，波谱学杂志，5(1988)，2：123.
[2] 王德华、许肖龙，化学学报，47(1989)，756.
[3] a) Weiner, P. K. et al, *Tetrahedron*, **39** (1983), 113; b)Heald, S. L. et al., *J. Mag. Res.*, 72 (1987), 120—138.
[4] Rajan, S. & Stockton, G. W., *Magnetic Resonance in Chemistry*, 27 (1989), 437—444.
[5] 许肖龙、毛诗珍等，波谱学杂志，5(1988)，4：328.
[6] Karplus, M., *J. Chem., Phys.*, 30(1959), 11.
[7] Streefkerk, D. G. et al., *Tetrahedron*, **29** (1973), 833.
[8] 王德华、王国玺等，波谱学杂志，7(1990)，2：245.