



УДК 547.9

СТИЛЬБЕНОВЫЕ ТЕТРАМЕРЫ ИЗ ОДНОЛЕТНИХ ПОБЕГОВ ВИНОГРАДНОЙ ЛОЗЫ

© 1997 г. М. Г. Бежуашвили, Л. А. Муджири, А. С. Шашков*[#], О. С. Чижов*, А. А. Стомахин*

НИИ садоводства, виноградарства и виноделия Академии наук Грузии, Тбилиси;

*Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН,
117913, Москва, Ленинский просп., 47

Поступила в редакцию 26.05.97 г. Принята к печати 02.06.97 г.

Из ацетонового экстракта однолетних побегов виноградной лозы сорта “Ркацители” выделен ряд производных стильбена. Установлено строение двух из этих соединений на основе ¹H-ЯМР, ¹³C-ЯМР и масс-спектральных данных. Показано, что изученные соединения являются тетрамерами 3,5,4'-тригидроксистильбена.

Ключевые слова: виноградная лоза, однолетние побеги, 3,5,4'-тригидроксистильбена тетрамеры.

В процессе изучения лигнина виноградной лозы выявлено присутствие его низкомолекулярных фенольных предшественников [1]. Цель настоящей работы – исследование этих фенольных соединений.

Суммарный препарат фенольных соединений из однолетних побегов лозы сорта “Ркацители” получен путем горячей экстракции ацетоном. В результате его разделения с помощью колоночной хроматографии на силикагеле выделено семь индивидуальных веществ (табл. 1), из которых нами ранее идентифицированы резвератрол (I) и ε-виниферин (II), представляющие собой производные стильбена [2, 3]. В данной работе рассмотрена структура еще двух веществ – (IV) и (V).

Спектры ¹³C-ЯМР обоих соединений содержат сигналы 28 атомов углерода. Тест на присоединенные протоны (APT [4]) показал, что в составе молекулы есть только четвертичные атомы углерода и атомы углерода, несущие один протон. Число сигналов метиновых групп (16) и непротонированных атомов углерода (12) в обоих спектрах ¹³C-ЯМР также одинаково (табл. 2). Согласно величинам хим. сдвигов и КССВ (через одну связь), соединение (IV) содержит две метиновые группы, не связанные с электроотрицательными заместителями (сигналы при 43.8 и 49.5 м. д., ¹J_{C,H} 127 и 128 Гц), две метиновые группы, несущие электроотрицательный заместитель (сигналы при 71.2 и 88.4 м. д., ¹J_{C,H} 137 и 146 Гц). Остальные метиновые группы принадлежат sp²-гибридизованным атомам углерода. Все непротонирован-

ные атомы углерода также дают сигналы в области, характерной для sp²-углеродов, из них шесть сигналов в самом слабом поле (156–160 м. д.) принадлежат углеродам, несущим электроотрицательный заместитель. В спектрах ацетильных производных (IVa) и (Va) из этих шести сигналов пять оказываются в несколько более сильном поле (149.3–151.6 м. д.) и лишь один (159.05 м. д. в (IVa) и 158.4 м. д. в (Va)) остается в той же области резонанса, что и в спектрах неацетилированных производных. Отсюда ясно, что в каждом соединении только один четвертичный атом углерода связан с мостиковым электроотрицательным заместителем, остальные пять рассматриваемых четвертичных атомов углерода связаны с ОН-группами. В спектре соединения (V) три сигнала находятся в области резонанса атомов углерода

Таблица 1. Характеристика индивидуальных соединений по данным ТСХ*

Соединение	Внешний вид	R _f	Цвет пятен
(I)	Кристаллы	0.92	Желтовато-коричневый
(II)	»	0.72	Светло-коричневый
(III)	Аморфное вещество	0.65	Коричневый
(IV)	То же	0.60	»
(V)	»	0.56	»
(VI)	»	0.40	Темно-коричневый
(VII)	»	0.36	»

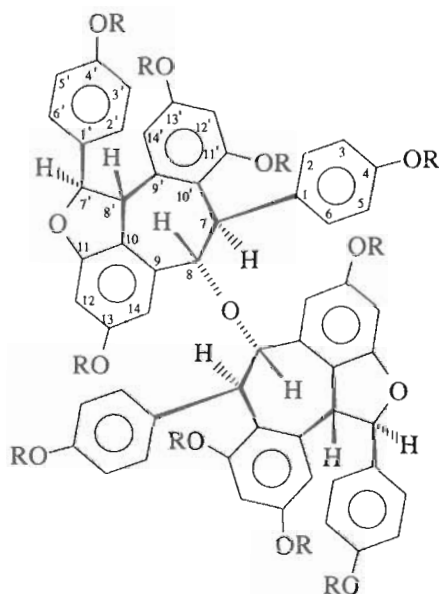
* Силикагель, бензол–ацетон (1 : 1), обнаружение диазотированной сульфаниловой кислотой.

Сокращения: ББА – бомбардировка быстрыми атомами, ЯЭО – ядерный эффект Оверхаузера.

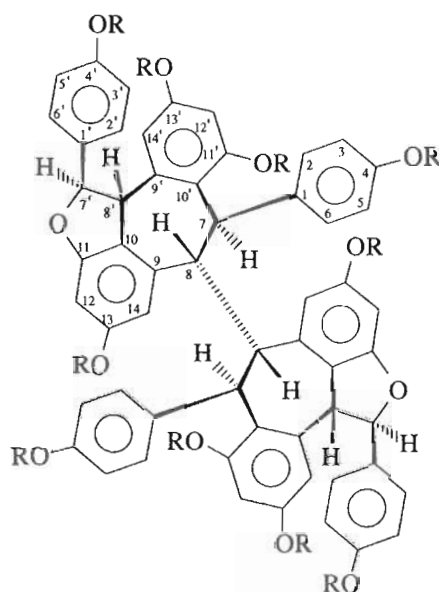
Автор для переписки.

метиновых групп без электроотрицательного заместителя (41.2, 48.1 и 49.7 м. д., $^1J_{C,H}$ 123–125 Гц) и лишь один обнаруживается в области резонанса метиновых групп, связанных с электроотрица-

тельными заместителями (88.2 м. д., $^1J_{C,H}$ 145 Гц). Остальные сигналы по величинам хим. сдвигов и $^1J_{C,H}$ близки к аналогичным сигналам в спектре соединения (IV).



(IV) R = H
(IVa) R = Ac



(V) R = H
(Va) R = Ac

Спектры 1H -ЯМР соединений (IV) и (V), снятые в $DMSO-d_6$, содержат сигналы 16 протонов, связанных с углеродом, и пяти протонов OH-групп при ароматическом ядре (7.5–8.7 м. д., синглеты). Для упрощения спектра протоны были обменены на дейтерий, а вещества растворены в $CDCl_3$ (для экспериментов с ЯЭО – в CD_3CN).

Спектры 1H -ЯМР соединений (IV) и (V) в $CDCl_3$ показаны на рис. 1 и 2. Сигналы в поле, более слабые, чем 6 м. д., принадлежат, по всей вероятности, протонам ароматических ядер. При этом часть сигналов имеет вид, характерный для AA'BB'-системы протонов пара-замещенного бензольного кольца ($^3J_{AB}$ 8.6–8.8 Гц), другие сигналы в этой области типичны для мета-протонов тетразамещенных бензольных колец (4J 2.3 Гц). Исходя из этих данных (по спектрам ^{13}C - и 1H -ЯМР) было сделано предположение о структуре веществ (IV) и (V) как конденсированных и частично (в разной степени) окисленных дистильбенов. Этому предположению противоречило наличие пяти OH-групп при четном числе атомов углерода (28) и протонов при них (16). Противоречие было разрешено по крайней мере для соединения (Va) после съемки масс-спектра ББА, который дал мо-

лекулярную массу 1326, отвечающую тетрамеру стильбена с симметричным (судя по приведенным выше данным ЯМР) соединением двух дистильбеновых фрагментов. Что же касается соединения (IVa), содержащего, судя по данным ЯМР, кислородный мостик в месте соединения тех же двух фрагментов (см. ниже), то отсутствие молекулярного пика в масс-спектре вполне объяснимо, поскольку разрыв связи C8–O дает весьма стабильный фрагмент, и поэтому трудно ожидать появления в масс-спектре пика M^+ -иона. Однако наличие кислородного мостика, соединяющего два димерных фрагмента, оставалось недоказанным.

Строение соединений (IV) и (V) было установлено после совместного анализа двумерных корреляционных гомоядерных и гетероядерных спектров, двумерных спектров ЯЭО во вращающейся системе координат (ROESY) для полных ацетатов (IVa) и (Va) и одномерных разностных спектров ЯЭО, дублирующих ROESY-эксперименты и позволяющих оценить относительные величины ЯЭО (спектры 1H -ЯМР соединений (IVa) и (Va) приведены на рис. 3).

Спектры COSY позволили скоррелировать химические сдвиги протонов, разделенных тремя и

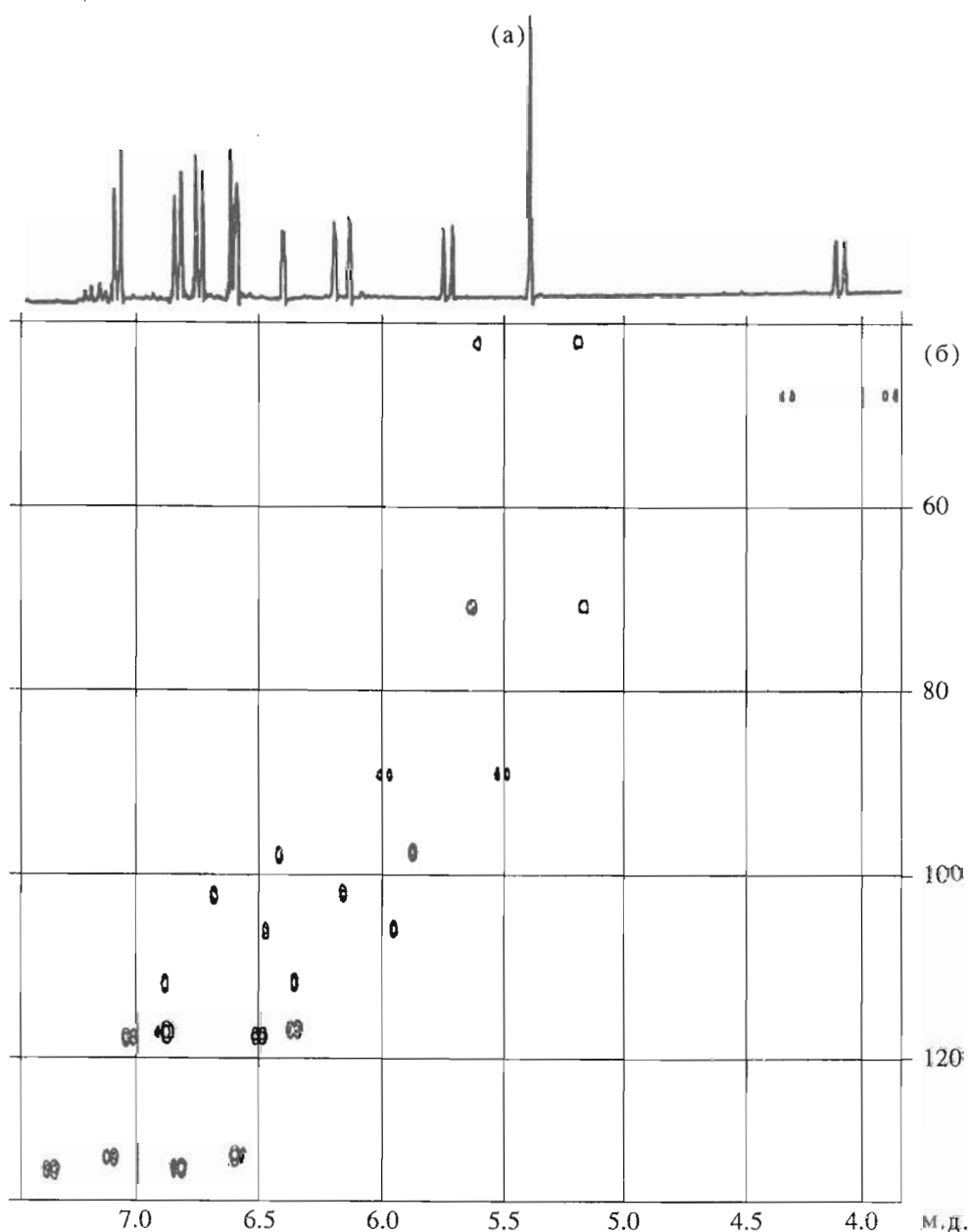


Рис. 1. ^1H -ЯМР-спектр (300 МГц) соединения (IV) в CDCl_3 (а) и его 2D- $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ -НМРС-спектр (б).

ные ароматические ядра находятся в различных частях дистильбеновых фрагментов (т.е. принадлежат разным молекулам стильбена в дистильбеновом фрагменте), и вписав их атомам углерода начальные номера (1–6), как принято в химии полистильбеновых производных [5], последовательно идентифицировали сигналы остальных протонов каждого из двух стильбеновых остатков. Так, наличие корреляционного пика в спектре COSY соединения (V) (рис. 4) в координатах 7.17/5.75 м. д. свидетельствует о наличии КССВ между протонами одного из *para*-замещенных колец и прото-

ном вне этого кольца. Это дает возможность отнести двухпротонный сигнал при 7.17 м. д. к $\text{H}2'$ и $\text{H}6'$ кольца, а сигнал при 5.75 м. д. – к протону $\text{H}7'$. Корреляционный пик 7.17/6.81 м. д. возникает за счет спин-спиновой связи $\text{H}2'$ ($\text{H}6'$) и $\text{H}3'$ ($\text{H}5'$); при этом отсутствие взаимодействия $\text{H}3'$ ($\text{H}5'$) с $\text{H}7'$ объясняется большей удаленностью (по связям) этих протонов. Интенсивный пик 5.75/4.23 м. д. отвечает большой КССВ $^3J_{\text{H}7',\text{H}8'}$ и сигнал с хим. сдвигом 4.23 м. д. принадлежит, таким образом, $\text{H}8'$. На координатах с хим. сдвигом $\text{H}8'$ имеются еще два корреляционных пика с хим. сдвигами

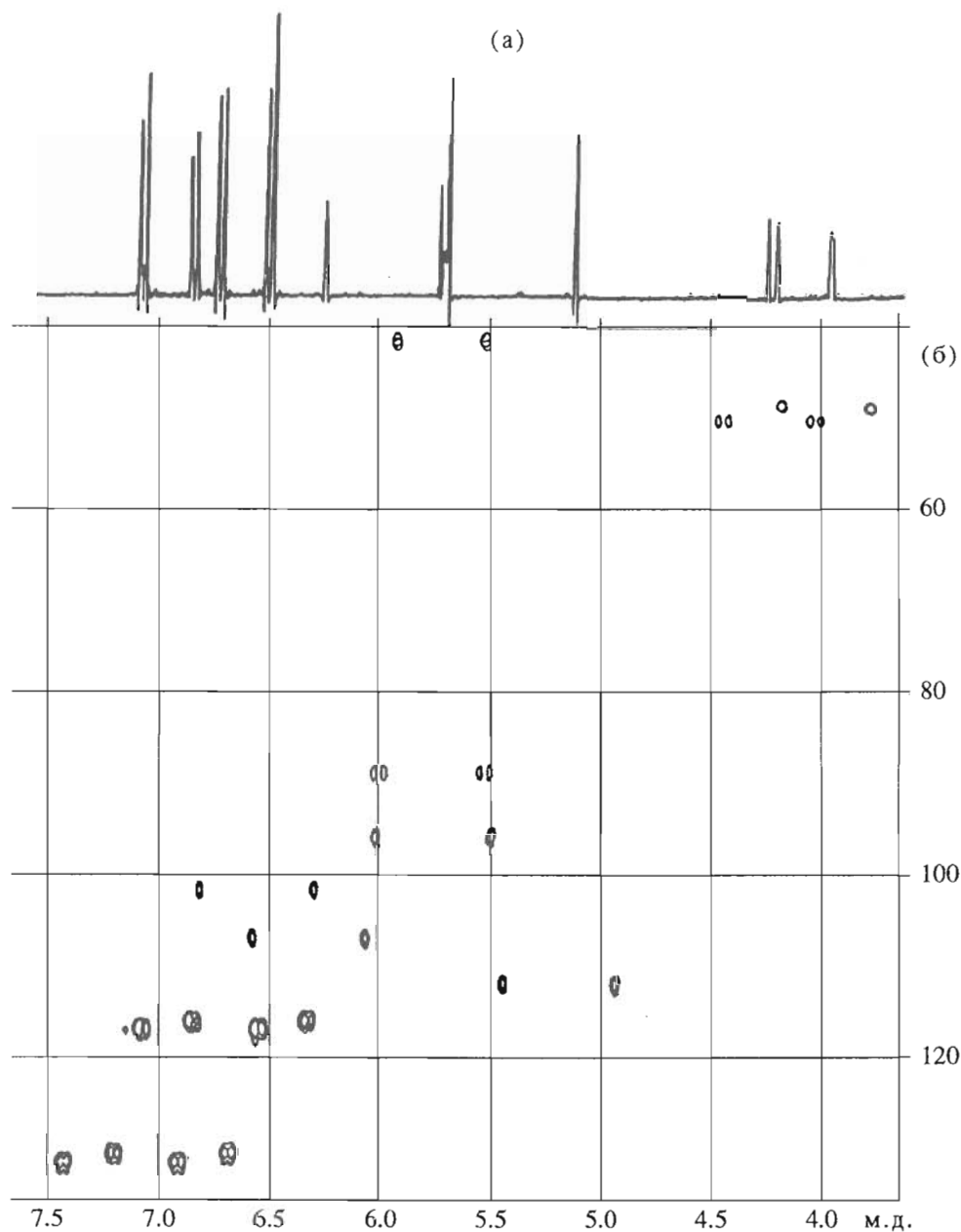


Рис. 2. ^1H -ЯМР-спектр (300 МГц) соединения (V) в CDCl_3 (а) и его $2\text{D-}^1\text{H}/^{13}\text{C}$ -НМРС-спектр (б).

6.30 (интенсивный) и 6.54 м. д. (слабый). Очевидно, что сигналы с этими хим. сдвигами должны принадлежать соответственно протонам Н14' и Н12'. Корреляционный пик в координатах 6.30/6.54 м. д. отвечает наличию КССВ через четыре связи между Н14' и Н12'. Отнесение сигналов Н7 и Н8 второго стильбенового остатка дистильбенового фрагмента определяется наличием корреляционного пика 6.92/5.74 м. д., возникающего за счет КССВ $^4J_{\text{H}2,6;\text{H}7}$, а также пика 5.74/3.96 м. д.

за счет КССВ $^3J_{\text{H}7,\text{H}7}$. Два оставшихся сигнала (5.73 и 5.17 м. д.) методом исключения могут быть отнесены к протонам кольца С9–С14, находящимся, судя по величине КССВ 2.2 Гц, в *meta*-положении друг к другу. Их отнесение к Н14 и Н12 строго следует из анализа ЯЭО- и гетероядерных 2D-COSY -спектров (см. ниже). Аналогичным образом были отнесены сигналы протонов в спектрах ^1H -ЯМР соединения (IV) и ацетатов (IVa) и (Va) (табл. 2).

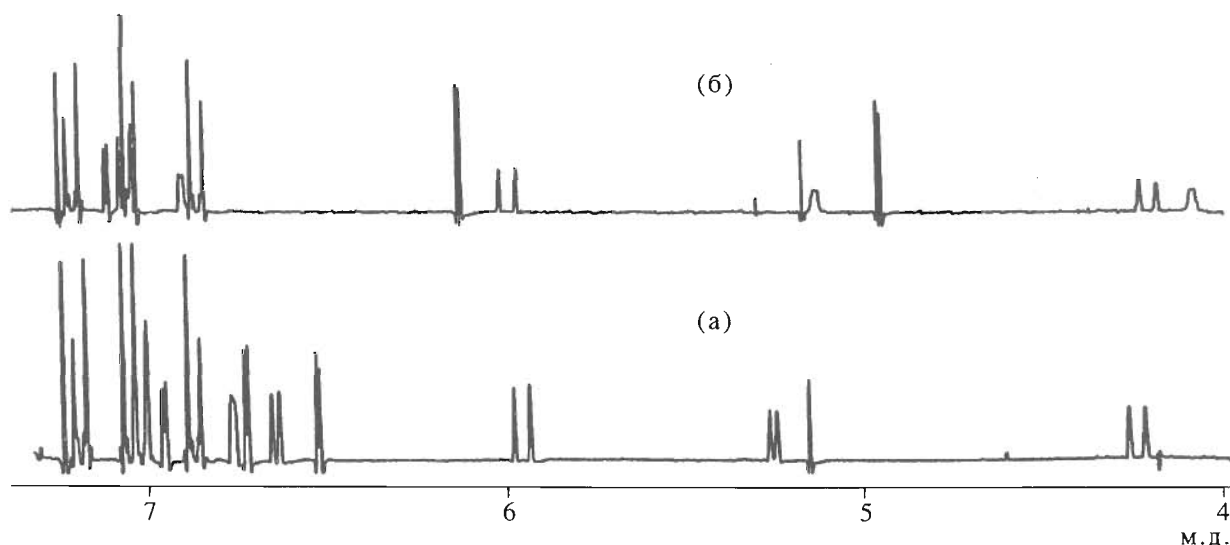


Рис. 3. ^1H -ЯМР-спектры (250 МГц) соединений (IVa) (а) и (Va) (б) в CDCl_3 .

рах ^1H -ЯМР соединения (IV) и ацетатов (IVa) и (Va) (табл. 2).

Эксперименты с ЯЭО (ROESY и одномерные разностные спектры ЯЭО с предоблучением различных протонов – рис. 5) обнаружили следующие важные для установления стереохимии пространственные контакты протонов.

1. Контакт протонов $\text{H}8'$ и $\text{H}2',6'$, что означает *цис*-расположение $\text{H}8'$ и соответствующего фенила относительно связи $\text{C}7' - \text{C}8'$. Относительно небольшой ЯЭО на $\text{H}7'$ (рис. 5а) означает, что большая КССВ $^3J_{\text{H}7',\text{H}8'}$ возникает за счет *транс*-расположения протонов $\text{H}7'$ и $\text{H}8'$ (диэдральный угол, близкий к 180°), а не за счет заслоненной конформации (угол, близкий к 0°).

Отметим также дальний контакт $\text{H}8'$ и $\text{H}2,6$, показывающий *цис*-расположение $\text{H}8'$ и ароматического кольца при $\text{C}7$.

2. Предоблучение атома $\text{H}7'$ (рис. 5в) приводит к небольшому усилению сигналов $\text{H}8'$ и $\text{H}2',6'$ и к значительному усилению сигнала $\text{H}14'$, что говорит о *цис*-расположении по отношению к тетрагидрофурановому кольцу $\text{H}7'$ и ароматического кольца, несущего $\text{H}14'$.

3. Предоблучение атома $\text{H}8$ вызывает ЯЭО примерно равной величины на $\text{H}7$, $\text{H}2,6$ и $\text{H}14$ (на рис. 5г сигнал последнего выглядит менее интенсивным из-за близкого расположения его к сигналу предоблучаемого протона; в двумерном ROESY-спектре соответствующие корреляционные пики имеют примерно равную интенсивность). Из наличия контактов как $\text{H}8$, так и $\text{H}8'$ с $\text{H}2,6$ следует *цис*-ориентация $\text{H}8$ и $\text{H}8'$.

4. Предоблучение атомов $\text{H}7$ вызывает усиление сигналов $\text{H}8$ и $\text{H}2,6$ (рис. 5б), что находится в согласии со сделанными выше выводами. Совокупность данных ЯЭО указывает на ваннообразную конформацию семичленного цикла, близкую к изображенной формулами (IV, IVa) и (V, Va).

Для дальнейшего понимания строения дистильбенового фрагмента необходимо было установить способ конденсации двух дистильбеновых остатков и определить положение кислородного мостика. Решение этой двойной задачи было найдено после отнесения сигналов в спектрах ^{13}C -ЯМР и анализа хим. сдвигов углерода. Отнесение было выполнено с помощью двумерной корреляционной спектроскопии $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ с настройкой на большую КССВ, $^1J \sim 150$ Гц (HMQC [6]) и на малые КССВ, 2J и $^3J \sim 5$ Гц (HMBC [7]).

HMQC-спектры (рис. 1 и 2) позволили отнести сигналы протонированных атомов углерода (табл. 2) и определить КССВ через одну связь, которые оказались информативными для определения ближайшего окружения атомов углерода. Так, для sp^3 -гибридизованных атомов углерода величина $^1J_{\text{H,C}}$ в интервале 123–127 Гц означает отсутствие связи с кислородом; константа 137–146 Гц характерна для метинового фрагмента, связанного с одним атомом кислорода, а КССВ 150–160 Гц типична для sp^2 -углеродов.

HMBC-спектры подтвердили распределение сигналов непротонированных углеродов по двум областям хим. сдвигов в зависимости от наличия при них кислорода или его отсутствия и позволили точно отнести сигналы внутри этих групп (табл. 3 и 4).

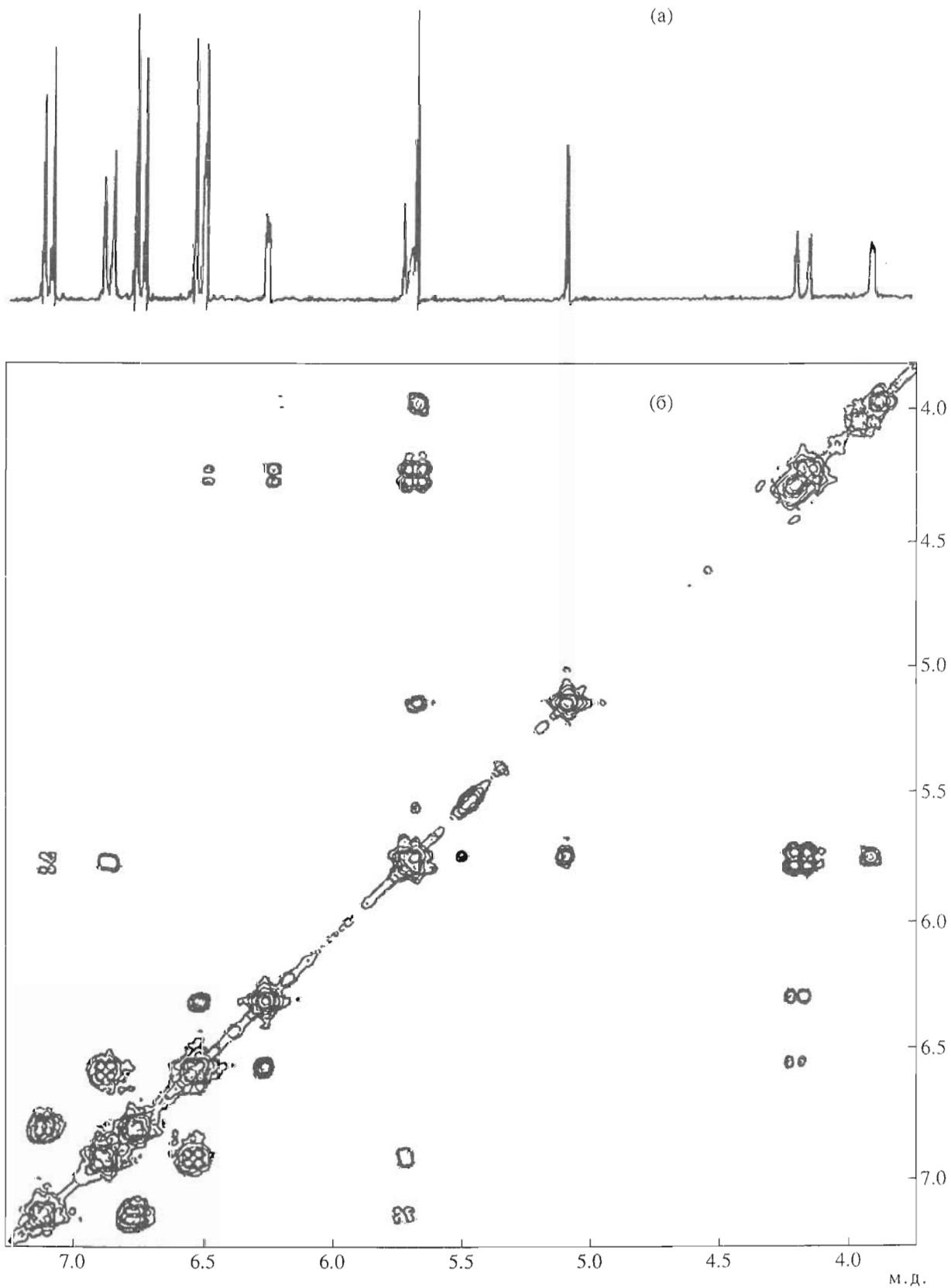


Рис. 4. Гомоядерный ^1H -2D-COSY-спектр (300 МГц) соединения (V) в CDCl_3 .

Таблица 2. Данные ^{13}C -ЯМР-спектров соединений (IV) и (V)

Атом углерода	δ , м. д. ($^1J_{\text{C,H}}$, Гц)		Атом углерода	δ , м. д. ($^1J_{\text{C,H}}$, Гц)	
	Соединение (IV)	Соединение (V)		Соединение (IV)	Соединение (V)
1	132.6	135.1	1'	130.8	130.8
2, 6	128.7 (169)	129.2 (155)	2', 6'	129.9 (159)	130.2 (156)
3, 5	115.4 (160)	115.1 (157)	3', 5'	116.0 (158)	115.9 (157)
4	156.1	155.6	4'	158.9	158.5
7	43.8 (127)	41.2 (125)	7'	88.4 (146)	88.2 (145)
8	71.2 (137)	48.1 (123)	8'	49.5 (128)	49.7 (125)
9	140.3	140.45	9'	143.0	142.3
10	118.25	118.5	10'	118.9	121.0
11	160.1	159.1	11'	157.25	158.8
12	97.1 (159)	95.1 (159)	12'	101.55 (156)	101.05 (156)
13	158.9	157.2*	13'	156.5	157.05*
14	110.5 (159)	111.2 (157)	14'	105.45 (156)	106.2 (156)

* Отнесение сигналов может быть обратным.

и C11 (с учетом слабопольных хим. сдвигов этих атомов углерода) и C–C-связи между C8' и C10. Малая КССВ между H8 и C10' свидетельствует о наличии связи между атомами C10' и C7 (или C8).

Поскольку при переходе от соединения (V) к (IV) меняется хим. сдвиг C8, а не C7, следует отдать предпочтение первому варианту (C10'–C7), так как одна из связей C8 в соединении (IV) должна

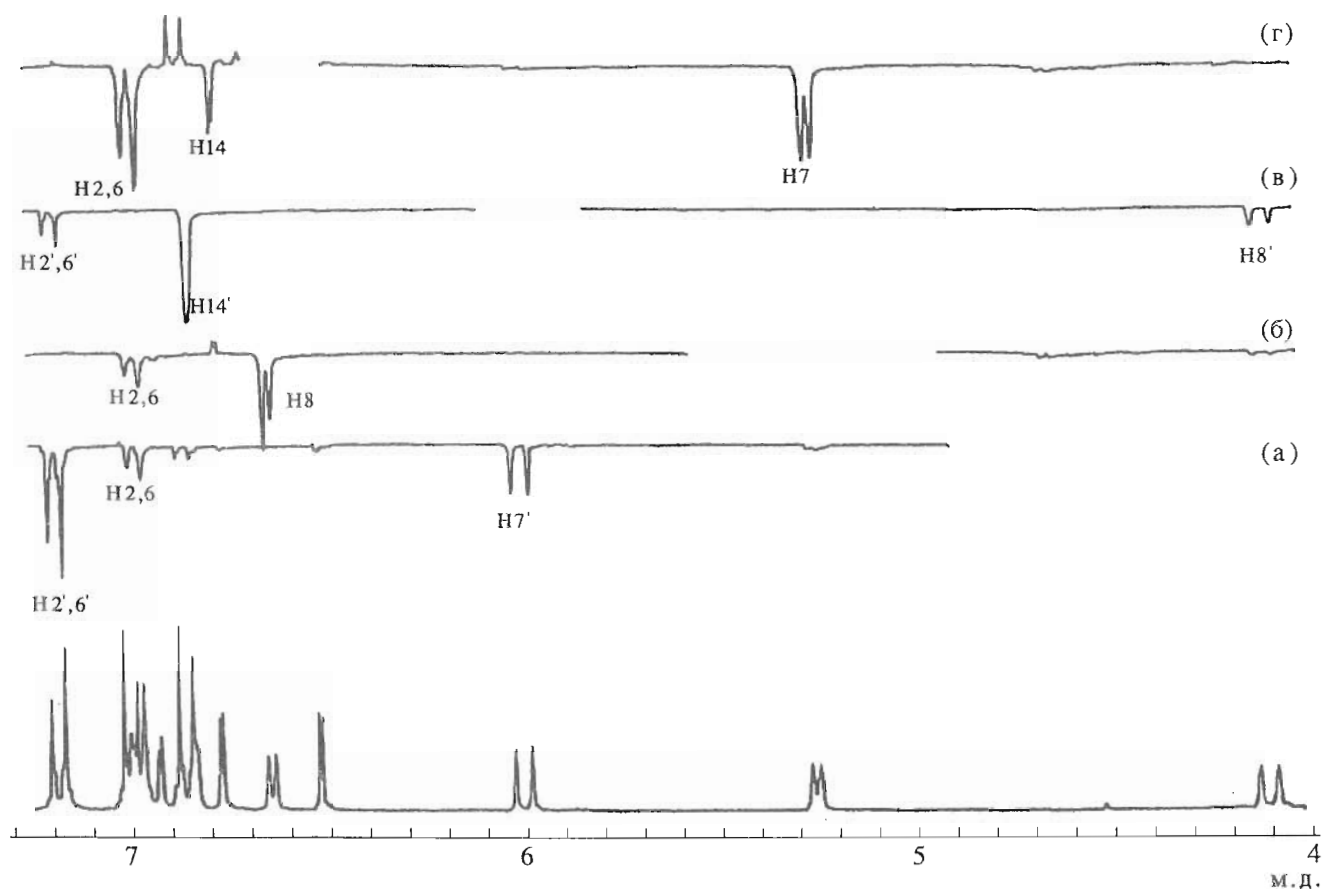


Рис. 5. ^1H -ЯМР-спектр полного ацетата соединения (IV) в ацетонитриле- d_3 и спектры ЯЭО, полученные при предоблучении протонов H8' (а), H7' (б), H7' (в) и H8 (г).

Таблица 3. Данные двумерного спектра НМВС для соединения (Va)*

¹³ C	H3',5'	H3,5	H12'	H14'	H7	H7'	H12	H14	H8'	H8
C11						+				
C11'			+							
C4'	+									
C13								+		
C13'				+						
C9'						+				
C9									+	
C1		+								
C10'				+						+
C10							+	+		
C4		+								
C1'	+									

* Приведены данные только для непротонированных атомов углерода. Плюс означает наличие корреляционного пика в координатах хим. сдвигов данного протона и атома углерода ¹³C.

быть с атомом кислорода. Совокупность всех данных отвечает предложенным структурам тетрастильбенов (IV) и (V).

Указанные соединения (IV), (V) из виноградной лозы выделены нами впервые.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Однолетние побеги виноградной лозы сорта "Ркацителли", высушенные до влажности 8–10% и измельченные до размеров 3–5 мм, помещали в

реактор, добавляли ацетон в соотношении 1 : 10 и проводили исчерпывающую экстракцию при нагревании. Экстракт отделяли от растительного сырья, растворитель отгоняли на ротаторном испарителе при 50°C. Концентрированный экстракт смешивали с силикагелем 40/100 мкм, высушивали, наносили на колонку, заполненную силикагелем. Элюирование проводили смесями хлороформ–метанол с возрастающей полярностью (от 90 : 10 до 70 : 30). Индивидуальность выделенных веществ проверяли методом ТСХ на силуфоле. В качестве растворителя использовали смесь бензол–ацетон (50 : 50), хроматограммы проявляли диазотированной сульфаниловой кислотой.

Спектры ¹H-ЯМР (1D и 2D) регистрировали для соединений (IV) и (V) в CDCl₃ с Me₄Si в качестве внутреннего стандарта на приборе WM-250 (Bruker). Спектры ЯЭО (1D и 2D) получали для растворов в CD₃OD и CD₃CN. При съемке использовали стандартные методики математического обеспечения для ЭВМ ASPECT-2000 COSY, NOEMULT и ROESY. Спектры ¹³C-ЯМР (1D и 2D) снимали для растворов в CDCl₃ на приборе AM-300 (Bruker) с рабочей частотой по углероду 75.5 Гц. При съемке двумерных ¹H/¹³C-спектров использовали стандартные методики математического обеспечения к ЭВМ ASPECT-3000 HMQC и HNBC, а также генератор BSV-3 [4, 6, 7]. ИК-спектры снимали в таблетках с KBr на спектрофотометре Specord IR-75.

Соединение (IV). ИК-спектр (ν, см⁻¹): 3388 (ОН), 1610, 1600, 1514, 1490, 1455, 1440, 1370, 1342, 1245, 1170, 1150, 1110, 990, 965, 925.

Таблица 4. Химические сдвиги (δ, м. д.) и КССВ (J, Гц) в спектрах ¹H-ЯМР соединений (IV) и (V) и их ацетатов (IVa) и (Va)

Соединение	Номера протонов											
	2', 6'	3', 5'	7'	8'	12'	14'	2, 6	3, 5	7	8	12	14
(IV)	7.10	6.77	5.75	4.13	6.42	6.21	6.85	6.62	5.41	5.41	6.15	6.62
	$J_{2,3'} = J_{5,6'} = 8.8$		$J_{7,8'} 12.0$		$J_{12',14'} 2.3$		$J_{2,3} = J_{5,6} = 8.7$				$J_{12,14} 2.3$	
(V)	7.17	6.81	5.75	4.23	6.54	6.30	6.92	6.58	5.74	3.96	5.73	5.17
	$J_{2,3'} = J_{5,6'} = 8.8$		$J_{7,8'} 12.5$		$J_{12',14'} 2.2$		$J_{2,3} = J_{5,6} = 8.8$		$J_{7,8} 3.6$		$J_{12,14} 2.2$	
(IVa)	7.22	7.08	5.98	4.25	6.99	6.80	7.05	6.91	5.27	6.68	6.56	6.76
	(7.26)*	(7.05)	(6.07)	(4.17)	(7.00)	(6.91)	(7.07)	(6.93)	(5.32)	(6.71)	(6.59)	(6.84)
	$J_{2,3'} = J_{5,6'} = 8.6$		$J_{7,8'} 12.0$		$J_{12',14'} 2.4$	$J_{14',8'} 1.9$	$J_{2,3} = J_{5,6} = 9.0$		$J_{7,8} 3.6$	$J_{8,8'} 1.0$	$J_{12,14} 2.1$	
					$J_{12',8} 2.1$		$J_{2,8} = J_{6,8} = 9.0$					
(Va)	7.23	7.07	6.00	4.20	7.13	6.93	7.08	6.88	5.13	4.07	4.95	6.14
	$J_{2,3'} = J_{5,6'} = 8.8$		$J_{7,8'} 12.0$		$J_{12',14'} 2.3$		$J_{2,3} = J_{5,6} = 9.0$		$J_{7,8} 3.2$		$J_{12,14} 2.1$	

* В скобках – химические сдвиги для раствора в ацетонитриле-d₃ (см. также рис. 5).

♦ **Соединение (V).** ИК-спектр (ν , cm^{-1}): 3380, 1614, 1600 (плечо), 1516, 1480, 1456, 1344, 1248, 1190, 1160, 1116, 1108, 994, 966, 928.

Масс-спектры ББА получены на приборе MS-50 (Kratos) с использованием глицериновой матрицы и атомов ксенона в качестве бомбардирующих частиц; ускоряющее напряжение 4 кВ, скорость сканирования 30 с на декаду масс.

Соединение (IVa). Масс-спектр, m/z : 663 ($\text{C}_{38}\text{H}_{31}\text{O}_{11}$)⁺.

Соединение (Va). Масс-спектр, m/z (отношение): 1326 (M^+), 1284 ($M - \text{CH}_2\text{CO}$), 1242 ($M - 2\text{CH}_2\text{CO}$).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бѣжуашвили М.Г., Муджири Л.А. // Изв. АН Грузии. Сер. хим. 1991. Т. 17. С. 207–209.
2. Бѣжуашвили М.Г., Муджири Л.А., Куркин В.А., Запесочная Г.Г. // Химия древесины. 1991. № 6. С. 75–76.
3. Бѣжуашвили М.Г., Муджири Л.А. // Изв. АН Грузии. Сер. хим. 1992. Т. 18. С. 240–241.
4. Patt S.A., Shoolery J.N. // J. Magn. Reson. 1992. V. 46. P. 535–539.
5. Lins A.P., De S. Ribeiro M.N., Gottlieb O.R., Gottlieb H.E. // J. Nat. Prod. 1982. V. 45. P. 754–761.
6. Vax A., Subramanian S. // J. Magn. Reson. 1986. V. 67. P. 565–569.
7. Vax A., Summers M.F. // J. Am. Chem. Soc. 1986. V. 108. P. 2093–2094.

Stilbene Tetramers from One-Year Grape-Vine Shoots

M. G. Bezhushvili*, L. A. Mudzhiri*, A. S. Shashkov**, O. S. Chizhov**, and A. A. Stomakhin**

*Research Institute of Horticulture, Viticulture, and Wine-Making, Academy of Agricultural Sciences of Georgia, Tbilisi, 380015 Georgia

**Zelinskii Institute of Organic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Leninskii pr. 47, GSP-1 Moscow, 117913 Russia

A series of stilbene derivatives was isolated from the acetone extract of one-year shoots of the Rkatsiteli grapevine. The structures of two of these compounds were elucidated by ^1H NMR and ^{13}C NMR spectroscopy and mass spectrometry. The compounds under study were shown to be tetrameric 3,5,4'-trihydroxystilbene derivatives.

Key words: grapevine, one-year shoots, 3,5,4'-trihydroxystilbene tetramers