

### SHANGHAI JIAO TONG UNIVERSITY



BACHELOR'S THESIS



# 论文题目 :Fluostatin 生物合成中非酶二聚反应

# 的特异化学选择性的理论研究

学生姓名:	王源祺					
学生学号:	515111910142					
专 业:	生物技术(基地班)					
指导教师:	赵一雷					
学院(系):	生命科学技术学院					



# Fluostatin 生物合成中非酶二聚反应的特异化学选择性的理论研究

### 摘要

Fluostatin 是微生物天然合成的一类具有药理作用的次生代谢产物,它含有特殊的 6-5-6-6 型稠环碳骨架。这种碳骨架通常具有抗菌、抗癌等作用,例如抗癌药 Lomaiviticin 和抗菌药醌那霉素 Kinamycin。最近体内实验发现生物合成中 Fluostatin 的手性二聚体居然 是非酶催化的产物(*Nature communications*, **2018**, 9: 2088.)。进一步的体外实验确定了该非酶 二聚反应可以在水或甲醇中进行,自发形成高手性选择性和化学位点选择性的抗菌二聚体 Difluostatin A。我们通过量子化学计算,分析二聚反应前体的各种物理化学性质,并通过化 学描述符定量化各个可能反应位点的反应活性。研究结果发现前线轨道布居函数、福井函 数等化学性质描述符可以精确体现二聚化反应中的 C1-C10'之间位点选择性。据此进一步利 用高阶电子密度密度泛函理论 M06-2X 的方法捕捉到所有可能反应途径的过渡态并计算其 活化能,准确、可靠地阐明了 C1-(R)-C10'-(S)位点与立体选择性的分子机制。最后,我们 通过弱相互作用可视化分析、能量分解分析,揭示了该反应体系中 π-π 堆积作用的强弱决定 了各个过渡态的相对能量大小,从而导致了实验中观察到的特异位点与立体选择性。综上, 我们推测在设计类似二聚化体系的碳骨架合成中,可以使用相应化学描述符快速预测位点 选择性,同时辅以过渡态能量计算与弱相互作用分析,即可达到高效合成指定位点与手性 产物的要求,对于进一步扩展简便、精准、高效的生物合成具有重要的指导意义。

关键词: Fluostatin, angucycline, 位点选择性, 位点选择性, 量子化学



# THEORETICAL INVESTIGATION ON SPECIFIC CHEMOSELECTIVITY OF NON-ENZYMATIC DIMERIZATION IN FLUOSTATIN BIOSYNTHESIS

### ABSTRACT

Fluostatins are a group of natural small molecules, which contain unique 6-5-6-6 type aromatic carbon backbone, and possess multiple biological activities including anti-tumor and anti-bacterial functions. A similar backbone is also found in anti-tumor pharmaceuticals like lomaiviticin and antibiotics including kanamycin. It is discovered that one of fluostatin dimers, difluostatin A, has anti-bacterial activity, and the formation of fluostatin dimers is a non-enzymatic reaction which can proceed in water or methanol. Moreover, the key carbon-carbon bond formation in fluostatin dimerization is highly regio- and stereoselective, so is extremely valuable for simple, precise and efficient stereoselective synthesis of molecules with similar carbon backbone. Here, multiple descriptors derived from theoretical chemistry have been applied to quantitatively describe the reactivity of different atoms, where descriptors such as frontier molecular orbital contribution and Fukui function have been discovered to effectively illustrate the C1-C10' regioselectivity. Such methods are also applicable to other systems for swift and accurate prediction of regioselectivity. Based on electronic structural analysis, free energy profiles for different reaction schemes have been acquired by quantum chemical calculations, which solidifies C1-(R)-C10'-(S) regio- and stereoselectivity from thermodynamic and kinetic aspects. To study energy differences between different reaction schemes, visualization of weak interactions and energy decomposition have been carried out to reveal how strength of  $\pi$ - $\pi$ stacking directly influences system energy, which determined regio- and stereoselectivity. In summary, when theoretically designing reaction pathways to synthesis similar backbones with high regio- and stereoselectivity, relevant descriptors should be applied to quickly predict regioselectivity, followed by examination of free energy profiles and weak interactions. The combination of these methods will enable fast, precise and efficient synthesis of regio- and stereoselective products.

Key words: Fluostatin, dimerization, regioselectivity, stereoselectivity, quantum chemistry



	ヨ
H	求

第一章 绪论	1	
1.1 碳骨架合成简介及分类	1	
1.2 碳骨架合成反应简介	2	
1.2.1 烯醇烷基化反应	2	
1.2.2 羟醛缩合反应	3	
1.2.3 Claisen 酯缩合反应	4	
1.2.4 Michael 加成反应	4	
1.2.5 Grignard 反应	5	
1.2.6 Wittig 反应	5	
1.3 化学选择性简介	7	
1.3.1 立体选择性	7	
1.4 Fluostatin 背景简介	8	
1.4.1 合成途径	9	
1.4.2 类似药物分子	9	
1.4.3 二聚体的合成与机制猜测	- 10	
1.5 本文研究内容和意义	- 11	
第二章 电子供体与电子受体的形成	- 12	
2.1 Fluostatin 的 pK <sub>a</sub> 的估计	- 12	
2.2 不同质子化状态的脱酰氧基能量计算	- 15	
2.3 二聚化反应过程的总结	- 16	
第三章 基于电子软度特性的活性位点预测	- 18	
3.1 电子软度简述	- 18	
3.2 前线轨道布居分析	- 18	
3.3 福井函数与简缩福井函数的计算	- 21	
3.4 平均局部离子化能的计算	- 22	
3.5 基于电子软度的描述符预测结果对比与总结	- 24	
第四章 基于静电效应的活性位点预测	- 26	
4.1 经典效应简述	- 26	
4.2 原子电荷的计算	- 26	
4.3 静电势的计算	- 28	
4.4 电子密度的计算	- 30	
4.5 基于静电效应的描述符预测结果对比与总结	- 31	
第五章 二聚化碳碳键形成过程的能量考察	- 33	
5.1 势能面扫描与过渡态搜寻	- 33	
5.2σ复合物的构象搜索	- 37	
5.3 不同碳碳键形成方式能量变化的比较与小结	- 37	
第六章 弱相互作用与化学选择性	- 39	
6.1 基于内禀反应坐标的活化形变与相互作用分析	- 39	



6.2	基于准分子近似的独立梯度模型弱相互可视化分析	40
6.3	基于对称匹配微扰理论的弱相互作用能量分解	42
6.4	不同反应途径弱相互作用的对比与小结	43
第七章	总结与展望	44



### 第一章 绪论

生化反应可以大体被分成2类: 酶促反应(Enzymatic Reactions)与非酶促反应 (Non-Enzymatic Reactions)。相比于非酶促反应,酶促反应受到精细调控,速度更快而且选 择性高。从进化角度看,非酶促反应在生命进化早期起着关键作用,而随进化过程不断被更 高效的酶促反应取代,然而现在作为代谢系统的一部分,非酶促反应仍然广泛存在。Ralser 等人将非酶促反应分为3类: 第一类反应存在相应的酶促反应,但是相比于酶促反应特异性 低,且较缓慢,例如非酶促的对蛋白或脂质的糖基化过程<sup>[11</sup>; 第二类反应没有相应的酶促反 应,例如维生素D<sub>3</sub>的前体被运送到表皮,通过紫外辐射转化为前维生素D<sub>3</sub><sup>[2]</sup>,随后通过自发 的异构化过程形成维生素D<sub>3</sub>; 第三类反应存在对应的酶促反应,且相应的酶促反应被用来 阻止非酶促反应产生不需要的次级产物,例如氨基酸的自发转氨基过程<sup>[3]</sup>、氨基丙二酸的脱 羧<sup>[4]</sup>以及丙基的异构<sup>[5,6]</sup>等。



在体内生化合成与化工生产中,可以合成成千上万种不同类型的小分子化合物、生物大 分子以及高聚物。这些分子绝大部分都以碳元素作为骨架,在合成合适碳骨架的基础上,进 行加工修饰,最终得到成熟的产物。因此可以推知,碳骨架的形成,在生化合成物化工合成 中均占有重要的地位。然而,能合成碳碳键并使碳骨架延伸的反应在众多有机反应中却非常 稀少,其中的每一个都有着重要的理论与实际应用价值。下面我们将对现已知的能够在溶剂 中实现碳碳键合成的反应进行总结梳理。

### 1.1 碳骨架合成简介及分类

碳骨架的合成可以称作是有机合成反应的核心过程。只有合成了合适的碳骨架,才有可能对它进行修饰处理,得到所需的化合物。碳碳键合成反应(Carbon-Carbon Bond Forming Reactions, CCBFRs)的适当组合则是实现碳骨架合成的关键。有机与生化合成中,化学家往往尝试逆向合成(Retrosynthesis)的思路,从产物出发,利用已知的反应回推,将复杂的修饰简化,并通过各种碳碳键的合成途径将大的碳骨架化为小的碳骨架,最终找到已有的常见合成原料。为了保证合成效率,一般要求合成的步骤越少越好,且每一步的反应速度与产率越高越好。

当今生化与化工领域的碳碳键合成反应往往都历史悠久,在长期的探索中积累了相当多的经验,因此在工业生产中得以灵活高效地应用。而其他一些罕见的碳碳键合成反应则应用较少。这一方面是因为其反应产物的特殊性使其无法成为主流的合成反应,另一方面,反应条件过于苛刻也可以制约反应的实用价值,导致工业上成本太高而无法采用相应的合成途径。 另外,若碳碳键的合成非常容易,以致反应不可控,产生诸多复反应与副产物,也是无法应

第1页共50页



用到工业生产中的。因此,寻找普适性的,反应条件温和,且化学选择性强的碳碳键合成反应一直是生化与有机合成的核心问题。当前已知的在工业上广泛运用的碳碳键合成反应有如下6种:烯醇烷基化、羟醛缩合反应、Claisen酯缩合反应<sup>[7]</sup>、Michael加成反应、Grignard反应、Wittig反应。这些反应一般需要酸碱、加热等常规工业手段加速反应进行。对于Grignard反应、Wittig反应,还需要添加特殊的试剂促进碳碳键的形成。即便如此,这些反应也已经在工业与生化生产中得到了广泛的应用。下面对这些反应进行较为详细的介绍。

### 1.2 碳骨架合成反应简介

上述6种有机合成反应都有其各自的特点,接下来对每一个反应进行介绍。

1.2.1 烯醇烷基化反应

烯醇烷基化(Enolate Alkylation)。烯醇烷基化针对的是醛或酮化合物。这些化合物在酸 或碱的催化作用下,可以异构形成烯醇式结构,该反应是可逆的。我们考虑在碱催化作用下 发生反应的反应机理。首先,由于羰基的吸电子效应,其α位的烷基氢原子易于离去。在碱 的作用下,氢氧根将α氢原子拔掉,在α位留下一个碳负离子。随后,电荷发生重排,电子通 过羰基碳原子转移到氧原子上面,而碳氧双键变成单键,在羰基碳与α碳之间形成新的双键。



图 1-1 烯醇烷基化的烯醇异构化过程<sup>[8]</sup>

紧接着,由于烷基化试剂,即卤代烃的存在,烯醇式离子可以进攻相应的卤代烃。此处, 有2种可能的进攻方式。首先,位于α位的碳负离子可以进攻烃基,同时使卤素原子脱落,而 卤代烃连接在α位。这一种加成被称为C-烷基化。另一种情况下,由于氧原子带有大量负电 荷,也可以进攻卤化烃,则会将烷基添加到氧原子上,这种反应被称为O-烷基化。需要注 意的是碳碳键的形成仅发生在C-烷基化中。



图 1-2 烯醇对卤化烃的取代反应<sup>[8]</sup>



这两种烷基化反应在工业生产中都有重要应用,取决于想要得到的产物是什么。有若干



个因素可以决定具体反应C-烷基化和O-烷基化的倾向性,例如负电荷密度、溶剂情况、亲 电试剂(卤化烃)的强弱等等。通常情况下反应得到的是两种取代反应的混合物,如果不能 高效分离将会给工业生产带来困难。为了控制位点选择性,研究人员们采用各种方式控制取 代位点,例如利用二次激活来制造高效专一反应<sup>[9]</sup>。

### 图 1-3 通过二次激活利用烯烃制造位点选择性的烯醇烷基化反应[9]

### 1.2.2 羟醛缩合反应

羟醛缩合(Aldehyde & alcohol condensation)是指有α氢的醛或酮在酸和碱的催化作用下, 缩合形成β-羟基酮(β-hydroxyl ketone)的过程。该反应常用的碱性催化剂有氢氧化钾、氢氧化 钠、碳酸钠、氢氧化钡等等,常用的酸性催化剂包括磺酸、硫酸等等。

羟醛缩合在酸或碱的条件下有不同的反应机理。在酸催化的条件下,首先从酮式结构变 构为烯醇式,然后烯醇对质子化的酮进行亲核加成,得到质子化的β-羟基酮,然后继续进行 质子转移,最后脱去水而形成α,β-不饱和酮。



图 1-4 酸性条件下羟醛缩合反应的反应机理<sup>[10]</sup>。

而在碱性条件下,首先生成烯醇负离子,然后烯醇负离子在针对醛或酮发生亲核加成, 加成产物从溶剂中夺取一个质子生成β-羟基醛,接下来在碱的作用下失去水生成α,β-不饱 和酮。





Base catalyzed dehydration (sometimes written as a single step)





### 图 1-5 碱性条件下羟醛缩合的反应机理<sup>[10]</sup>。

羟醛缩合反应可以分为若干类,包括醛和酮的自身缩合、醛和酮的交叉缩合、醛和酮的 定向缩合等等。自身缩合表示单一一种醛或酮在少量酸碱的催化下在室温条件下即可缩合。 由于平衡系数很大,反应可以非常顺利地进行。

交叉缩合表示两种不同地醛或酮可以进行交叉地羟醛缩合。理论上可以形成一共4种产物。为了合成多样化地碳骨架,有时必须使用交叉羟醛缩合。这时为了减少副反应地产生,一般会使用一个无α氢的芳香醛来提供羰基和一个有α氢脂肪族醛或酮反应,可以得到产率很高的α,β-不饱和酮,这个反应就是著名的克莱森-施密特(Claisen-Schmidt)反应。

而醛和酮的定向缩合则是在羰基的2个α碳都有氢的时候,产生碳负离子的倾向性。一般 情况下该反应的选择性与反应条件密切相关,例如在酸性和碱性情况下产物会不同。

#### 1.2.3 Claisen 酯缩合反应

Claisen酯缩合反应是指两分子酯在碱的作用下失去一分子醇,生成β-羰基酯的反应。以 乙酸乙酯为例。首先,乙酸乙酯在碱的作用下失去α位的氢,生成烯醇阴离子,其随后对另 一个酯分子发生亲核加成,随后再发生消去反应,乙氧负离子离去,最后生成乙酰乙酸乙酯。 由于该反应是在碱性条件下进行,反应所生成的乙酰乙酸乙酯会迅速与碱发生反应生成钠盐 而析出,析出后的晶体重新在酸中溶解既可以从新得到乙酰乙酸乙酯。



和羟醛缩合类似, Claisen酯缩合反应也有可能发生副反应。如果将两种不同的酯进行混合,且它们都含有2个α活泼氢,那么理论上就可以产生4种产物。因此,为了控制副反应不让其容易发生,一般工业上使用这种缩合反应时,会选择一个带有α活泼氢的酯和一个没有α活泼氢的酯,这样得到的产物才较为纯净。一般会使用苯甲酸酯(Benzoate)、甲酸酯(Formate)、 草酸酯(Oxalate)、碳酸脂(Carbonate)等不含有α活泼氢的酯来作为其中一个反应分子。



### 1.2.4 Michael 加成反应

Michael加成反应是有机合成领域极为重要的一个反应,其应用极为广泛。一个被称为 供体的亲核碳负离子化合物与一个被称作受体的能提供亲电共轭体系的化合物,例如α,β-不饱和醛、酮、酯等等,并在碱性催化剂的作用下,发生亲核1,4-共轭加成,该反应称作 Michael加成反应。



第4页共50页



在碱性条件下,作用机理为:首先碱夺取碳上的活泼氢,生成一个烯醇负离子,然后烯 醇负离子的碳端与受体发生1.4-共轭加成,产物接着从溶剂中获取一个质子生成烯醇,然后 烯醇与酮式结构互变生成最终产物。



图 1-9 Michael 加成反应在碱性条件下的机理<sup>[12]</sup>。

Michael加成在合成上有着非常广泛的用途,因为亲电试剂与亲核试剂种类繁多。在最 近,研究人员尝试扩展非对称的Michael反应,包括使用如手性相转移催化或有机催化等条 件,来合成其他的化合物。

1.2.5 Grignard 反应

Grignard反应是一种有机金属反应,反应中一分子被-MgBr取代的烷基链被加成到羰基 碳上。反应在有机溶剂中进行,是有机合成中非常重要的一个反应,因为可以导致碳碳键的 形成<sup>[13]</sup>。



Grignard反应的机理为,连接Mg原子的碳原子具有强亲核性,可以攻击少电子的羰基碳。 这种加成反应通常需要通过一个六元环状的过渡态。





#### 1.2.6 Wittig 反应

Wittig反应是一种通过醛或酮形成碳碳键的重要反应。它使用特殊的磷叶立德,即Wittig 试剂。元素周期表第三周期的元素,特别是磷和硫,在和碳原子相连时,碳原子会带负电, 硫和磷会戴震点。这样彼此相连的结构, 叫做叶立德。而由磷和碳相连形成的叶立德称为磷 叶立德。除了磷叶立德外,还有硫叶立德、氮叶立德等等。





图 1-12 Wittig 反应的典型机理<sup>[14]</sup>。

磷叶立德即为Wittig试剂,是德国化学家Wittig在1953年发现的,其制作方法是将四级 鏻盐和强碱反应失去一分子卤化氢形成的。一般情况下,磷叶立德是一种黄色固体,对水和 空去都不稳定。因此需要注意的是,在有机合成中一般不会把磷叶立德从溶剂中分离出来, 而是直接继续添加反应物反应。

Wittig的反应机理是磷叶立德试剂与酮或者醛发生亲核加成,形成偶极中间体(Dipole Intermediate);这个中间体在-78℃较为稳定,当温度升高到0℃时,中间体很快分解生成烯烃。利用Wittig试剂反应生成的烯烃类化合物,产物中碳碳双键的位置和原来碳氧双键的位置完全一致,不存在不一样的情况,具有优异的位点选择性。但是产物的立体结构却不能总是被准确地预知,一般而言,产物烯烃的构型取决于磷叶立德的活性,在磷叶立德很活泼的时候,一般都会产生顺反异构体的混合物。这一点对于精确的手性合成并不十分理想。



图 1-13 磷叶立德的典型结构<sup>[14]</sup>。



### 1.3 化学选择性简介

化学选择性(Chemoselectivity)是许多选择性的总称,是有机合成界非常重要的一个内容。 仅仅合成某种拓扑结构的碳骨架并不一定能够得到人们想要的产物。产物的立体结构、手性、 位点选择性都是决定产物是否有价值的硬性指标。IUPAC将化学选择性定义为:"化学试剂 与两种或多种不同官能团之一的优先反应。如果仅有有限数量的不同官能团发生反应,则试 剂具有高化学选择性。"<sup>[15]</sup>例如,四氢硼酸钠是比四氢铝酸锂更有化学选择性的还原剂。 该术语也适用于化学上不同的试剂表现出选择性的反应分子或者中间体。



图 1-14 化学选择性与其他化学概念的关联拓扑(IUPAC)

1.3.1 立体选择性

立体选择性(Stereoselectivity, or Stereospecificity)是指如果仅在其构型上不同的起始材 料转化为立体异构产物,则该反应被称为立体特异性的。根据该定义,立体定向过程必然是 立体选择性的,但并非所有的立体选择性过程都是立体定向的。立体选择性可以是全部或者 部分的。对于立体选择性,有许多不同的类别。

对应选择性(Enantioselectivity),指在某个化学反应中使用手性催化剂、酶或者手性试剂, 优先选择一种对映异构体。选择性的程度通过测量对映体过量来衡量。一种重要的实现对应 选择性的方法是动力学差异,即通过添加对映异构选择性的催化剂或酶,使得生成某一种对 应异构体的反应速度远远大于生成另一种对映异构体的反应速度,从而大量合成一种对应异 构体的方法。



非对应异构选择性(Diastereoselectibity)。和对应异构选择性不同,非对映异构选择性指



在化学反应中两种非对应异构体在形成速率、产率上的不同。在这种情况下,一般有2个或 多个手性原子参与,因此会形成非对映异构体。

1.3.2位点选择性。位点选择性指在化学键形成或断裂的过程中,某些化学键的形成或断裂倾向比另一些化学键形成或者断裂的倾向高的现象。芳香环上的亲电取代反应正是位点选择性的一种体现。在芳香环上面的亲电取代反应可以用所谓的"定位基效益"(Directing Effect)进行解释,即已有的集团将对后进入集团进入苯环的位置产生制约作用,这种作用即为取代基的定位基效应。这种取代效应和很多因素有关,一般认为包括取代基与苯环之间的诱导效应,共轭效应与超共轭效应。由于本课题所处理的体系的位点选择性与芳香环亲电反应息息相关,下面将着重讲解芳香环取代基的定位效应的原理。

诱导效应与共轭效应。所有取代基的对苯环的影响都是通过取代基的电子结构与苯环电 子结构之间的这两种关联形式体现的。已有的集团对于后续进入苯环的基团产生的影响也就 是通过这两种关联形式产生的。在共轭苯环体系中,如果取代基连接的原子比碳原子的电负 性大,那么这个基团就会通过吸电子的作用将苯环上面离域的π电子通过该原子与苯环相连 的σ键向该取代基转移,这种电子效应称为诱导效应。而共轭效应指的是取代基的p轨道电子 与苯环的π电子轨道相互重叠导致混合,因此导致取代基的p电子向苯环偏移。这种效应即共 轭效应。以羟基为例,氧原子的电负性强于碳原子,因此具有强烈的诱导效应,导致苯环上 的π电子云偏向羟基;另一方面,氧原子上面的p轨道电子因为朝向可以与苯环的π电子混合, 产生明显的共轭效应,又使苯环上面的电子密度变多。总体而言,由于共轭效应强于诱导效 应,羟基的存在为还是增加了苯环上的电子密度。



图 1-16 定位效应的分类和强弱<sup>[19]</sup>

大部分取代基的诱导和共轭效应的方向是一致的,只有少数原子的两种效应是方向相反 的。最终,有的取代基的总效应是导致苯环上的电子密度增加,这些取代基被称作第一类取 代基;另一类取代基的总效应是导致苯环上的电子密度减少,被称作第二类取代基。通过共 轭论可以加以解释。这两类取代基的每一类中每一种取代基也有自己的强弱。有些取代基定 位效果很强,例如羟基,也有的取代基定位效果很弱,例如苯基。这些都可以通过对比共轭 和诱导效应来加以解释。

### 1.4 Fluostatin 背景简介

Fluostatin是一类非典型的Angucycline,它们含有一个Fluorenone发色团,并具有6-5-6-6型的特殊环形骨架<sup>[20,21]</sup>。在其他化合物例如Lomaiviticin<sup>[22-24]</sup>(以上名词均无中文译名)和醌 那霉素<sup>[25-28]</sup>(Kinamycin)中也发现有类似的骨架。目前一共有13种Fluostatin被报道,其中A-E来自链霉菌<sup>[29,30]</sup>, F-H来自宏基因组方法下的独立培养<sup>[31]</sup>, I-K来自小单孢菌(*Micromonospora rosaria*) SCSIO N160<sup>[20,32]</sup>, R, S来自在链霉菌*S. coelicolor* J1074中表达外源的*fls*基因簇<sup>[24]</sup>。



1.4.1 合成途径

合成该非典型Angucycline Fluostatins的基因簇<u>fls</u>首先在海洋生物小单孢菌SCSIO N160 中通过基因敲除被发现。由于Fluostatin特殊的结构和生物活性,它成为了合成工作的兴趣点 <sup>[33-36]</sup>。近期研究已经完成了对关键中间体的表征,发现了产生起始化合物的新方式<sup>[37]</sup>,并 证实了关键酶在氧化成环与环氧化过程中的作用<sup>[20, 38, 39]</sup>。Zhang等在链霉菌S. coelicolor YF11中表达外源的fls基因簇,纯化鉴定得到了2种新产物:Fluostatin L与特异的异源二聚体 Difluostatin A,其中Difluostatin A具有抗菌活性<sup>[20]</sup>。随后Huang等使用类似的海盐环境异源 表达fls基因簇从S. albus中得到了更多的单体与二聚体,包括Fluostatin R, S, Difluostatin B-D 以及更罕见的三聚体Trifluostatin A<sup>[24]</sup>。



### 1.4.2 类似药物分子

Fluostatin分子的6-5-6-6环状结构非常特殊,在诸多药物分子中也有类似的结构,例如抗 癌药物Lomaiviticin和抗生素醌那霉素。需要注意的是,Lomaiviticin中存在类似Fluostatin二 聚体的结构,形成该共价化合物的方式有可能与Fluostatin二聚化的反应机理颇为相似。





图 1-18 Lomaiviticin 以及醌那霉素等药用小分子的结构

### 1.4.3 二聚体的合成与机制猜测

由于二聚体Difluostatin A具有抗菌性质,Fluostatin的二聚化过程成为了研究的重点。 Huang等人进一步对于关键酶FlsH的活性研究意外地表明Fluostatin的二聚化过程并非酶促 反应,且可以在水或甲醇等极性溶剂中自发进行。



第 10 页 共 50 页



Fluostatin的二聚化的核心步骤包括2个C原子之间的C-C键形成,而常温常压的溶液中在没有催化剂存在的情况下上述C-C键的形成十分罕见,目前已知的能发生C-C键形成的有机反应包括著名的Grignard反应、Wittg反应、Aldol反应以及Claisen缩合等,在生物体内较为少见,只有Aldol反应以及Michael加成在生物里内有被发现。

### 1.5 本文研究内容和意义

如上所述,碳碳键的合成在生化反应与有机合成中都是极其重要的课题。扩展碳碳键的 合成方法可以帮助我们合成多种多样的化合物,获得新型材料、新型药物等。其次,通过将 传统合成途径的多步反应化简为更少步骤的反应,可以在简化工艺的基础上显著提高产率。 对于药物与小分子生产,这样做可以迅速降低合成与提纯成本,有利于推动药物合成、销售 廉价化,为民众生活提供更优质、廉价的药品供应。由于Difluostatin A具有良好的抗菌效果, 且众多含有Difluostatin结构的化合物具有抗癌抗菌活性,不难想象,Fluostatin多样化的二聚 体库无疑是发现具有新生物学功能的小分子宝库。同时,Fluostatin的碳碳键合成在室温极性 溶剂中即可自发进行,不需要高温高压等苛刻的条件,即可完成反应。适量添加碱可以加速 反应进行。这种反应条件宽松的碳碳键合成反应在有机与生化合成中并不多见。如果可以多 加利用,必然可以方便地合成大量不同地类似二聚体分子。因此,有必要从计算化学与理论 化学的角度阐释该反应的自发性与其结构的关系。

除了更加简单易行地碳碳键合成途径,Fluostatin二聚化过程表现出强烈的位点选择性和 立体选择性。体外非酶反应仅仅发现了C1-C10'的连接方式,并且产物中C1的手性保持为R 型,这种位点选择性对于准确、高效的二聚体合成至关重要,同时还可以免除许多复杂的提 纯问题的产率问题。从传统实验角度,这种位点选择性无法被准确解释,只能通过例如定位 基效应等方式定性说明。我们希望能够从计算化学层面,定量衡量位点之间的反应活性差异, 并从能量水平给出精确解释,从而建立对于这一类体系完整、精确、可靠的位点与立体选择 性的预测和解决机制,为进一步设计与合成其他Fluostatin二聚体提供精准的理论支撑。

总之,Fluostatin二聚化的自发碳碳键形成,以及碳碳键形成的高度位点选择性与立体选择性,暗示该共价二聚化反应具有非常特殊的性质。从理论上定量解释该反应的反应机理有助于加深对碳碳键合成的了解,同时精确预测并解释位点选择性对于新二聚体设计,以及其他碳骨架合成有着重要的理论意义。通过研究Fluostatin二聚化反应机理以及其位点选择性、立体选择性的内在原因,一方面,我们希望能够拓宽碳碳键合成方法,以更简单的方法合成更复杂的有机产物;另一方面,我们希望可以通过计算化学途径迅速、准确地预测位点选择性与立体选择性,加速有机合成效率。



第 11 页 共 50 页



### 第二章 电子供体与电子受体的形成

Fluostatin的二聚化反应在单一Fluostatin单体的存在下即可进行,会产生一种同源二聚体。 由于碳碳键所连接的并不对称,可以推断在碳碳键形成时,两侧的两个分子并不是对称的。 事实上,根据Huang等人的推论,Fluostatin在形成关键的碳碳键之前,一分子Fluostatin电离 O7位的质子生成一分子Fluostatin负离子,作为Michael反应中的电子供体。另一分子Fluostatin 电离O6位的质子,然后发生C1位发生一步关键的去酰氧基化反应,C1连接的酰氧基作为羧 酸根脱去,剩下的部分则作为电子受体存在<sup>[24]</sup>。由于电子受体结构中包含对甲基醌(*p*-QM) 的核心结构,这种电子受体也被称为*p*-QM<sup>[40]</sup>。在此基础上,形成的电子受体与电子供体才 能进一步反应形成碳碳键。为了研究Fluostatin的二聚化过程,产生电子受体与电子供体的步 骤也应该被着重研究。下面重点阐述电子供体与电子受体的产生过程。

由于在实验中,Huang等人发现Fluostatin D能够在无酶情况下,在水中自发发生二聚化反应,而Fluostatin J可以在甲醇环境下二聚化生成其对应的同源二聚体。由于Fluostatin D的侧链为异丁基,大小适中,且各Fluostatin单体的侧链大小相差并不显著,下面我们使用Fluostatin D在水中的反应为对象进行研究。

### 2.1 Fluostatin 的 pK<sub>a</sub>的估计

为了探究Fluostatin的二聚化过程,其质子化状态是非常重要的。质子化状态可能影响到 电子结构,对于位点选择性也有不同程度的影响。为了探究Fluostatin的质子化状态,我们需 要知道Fluostatin的2个酚羟基在溶液中的电离情况,才能够对后续的反应做出判断。

预测pKa的方式有很多种。主要可以分为2种。第一种,使用统计方法、QSAR模型等, 在不计算能量的情况下根据已知pKa的化合物来估算未知化合物的pKa。这种方法一般采用化 学信息学手段进行操作,最后给出一个估计值。第二种,使用量子力学计算来估计pKa,这 种方法从原理上来说是非常准确的。假设酸为AHaq,可以电离出A<sub>aq</sub>和H<sub>aq</sub>,根据电离pKa定 义:

$$K_{a} = \frac{\left[A_{aq}^{-}\right]\left[H_{aq}^{+}\right]}{\left[AH_{aq}\right]}$$
(2-1)

溶剂下解离过程的自由能变为:  $\Delta G_{aq} = -RTlnK_a = -2.30RTlog_{10}K_a$  (2-2)

$$pK_{a} = -\log_{10}(K_{a}) = \frac{\Delta G_{aq}}{2.303RT}$$
(2-3)

可以看到, pK<sub>a</sub>可以直接通过溶解过程的自由能变直接求得。因此,获得准确的pK<sub>a</sub>最重要的地方在于求得准确的溶解自由能变。该自由能变需要构建如下的热力学循环获得<sup>[41]</sup>:

latr

第 12 页 共 50 页



### 图 2-1 QM 计算 pKa的热力学循环方法示意图<sup>[41]</sup>

上述热力学循环中,计算目标是 Δ G<sup>1M</sup>,通过它可以直接计算出pK<sub>a</sub>。而气相下的自由 能变可以通过热力学组合方法精确得到:

$$\Delta G_{gas}^{1atm} = G_{gas}^{0}(A^{-}) + G_{gas}^{0}(H^{+}) - G_{gas}^{0}(AH)$$
(2-4)

其中,氢离子的吉布斯自由能有精确值G<sup>0</sup><sub>gas</sub>(H<sup>+</sup>) = -6.28 kcal/mol,因此,只需要计算 气相下酸与酸根的吉布斯自由能绝对值。由于pK<sub>a</sub>计算的主要误差即来自于这两个自由能得 计算,实际计算需要使用CBS-QB3以上级别的热力学组合方法,直接算出吉布斯自由能。 除此之外,质子的溶解自由能并不能通过隐式溶剂模型得到,需要使用实验值:

$$\Delta G_{\text{solv}}^{\text{mod}}(\text{H}^+) = -265.9 \text{ kcal/mol}$$
(2-5)

而从气相标准态到液相标准态自由能变也已知:

$$\Delta G^{1atm \to 1M} = 1.89 \text{ kcal/mol}$$
(2-6)

将已知值代入,可以得到如下关系:

$$pK_a = 0.733 \Delta G_{aq}^{1M}$$
 (2-7)

然而对于上述公式,需要注意的是:当 $\Delta G_{aq}^{1M}$ 的误差达到1.4 kcal/mol时, pK<sub>a</sub>的误差就

会达到1个单位。显然,即使使用CBS-QB3完备基组,要将能量误差限制在1 kcal/mol以内是 非常困难的。此外,当原子数达到十几个原子时,想要利用热力学组合方法计算分子的吉布 斯自由能是几乎不可能的。这种方法仅仅可以用于计算原子数非常少的酸,对于大体系并没 有好的解决方法。因此我们决定不采用这种方法进行计算。

除了通过严格的量子力学计算获得能量推算相应的pKa值,也可以通过其他数学建模或 者拟合方法来预测。基于可得到性与方便性,我们选择Marvin Suite<sup>[42]</sup>对Fluostatin D的2个酚 羟基的pKa进行预测。该计算基于该软件自身的数据库与算法,可以给出每一个酚羟基的pKa。

经过计算,在298 K给出的O6位酚羟基的微观pK<sub>a</sub>是7.70,O7位的酚羟基的围观pK<sub>a</sub>是7.90, 表明在中性或者弱碱性环境下,两个酚羟基就都有相当可观的电离。O6位酚羟基的电离比 O7位酚羟基的电离略微容易一些。我们可以发现,在此分子中除了两个酚羟基,同时还存 在2个羰基,它们均与6元芳香环保持平行关系,因此可以对苯环π电子施加很强的吸电子效 应,导致苯环上π电子密度下降。由于酚羟基对苯环的给电子效应,酚羟基的氧氢键也会有 电子密度下降,因此被削弱,使电离更有可能发生。



图 2-2 Fluostatin D 的双羟基的位置以及各自的微观 pKa数值

根据已知数据,苯酚在298 K下的pK<sub>a</sub>为9.95,在吸电子集团的存在下更有可能发生电离, pK<sub>a</sub>因此会下降。同时,由于两侧的酚羟基并不对称,O6位的酚羟基离C4位羰基更接近,因 此O6位酚羟基比O7位酚羟基更容易电离。预测结果与我们的理论预测相符,我们认为该预

第 13 页 共 50 页



测结果定性正确。

基于以上微观pK<sub>a</sub>,可以得到宏观水平上的一级电离与二级电离的pK<sub>a</sub>。对于一级电离, pK<sub>a1</sub>=7.49,对于二级电离,pK<sub>a2</sub>=12.06。说明在pH在中性范围时,大多数Fluostatin会以单 电离状态形式存在,而当pH继续升高时,单电离的Fluostatin会继续电离,将另一个酚羟基 电离,从而形成二价阴离子的Fluostatin。依据此原理,可以做出Fluostatin溶液在不同pH条 件下不同电离成分所占的比例。



通过图2-3可以观察到,当pH在6以下时,溶液中Fluostatin D大多以原始不带电的形式存 在。随着pH的升高,Fluostatin开始电离。O6与O7两侧的酚羟基都可以发生电离。两种一级 电离产物的占比随pH的变化曲线非常相近,在pH=6时开始发生第一级电离,在pH=9左右达 到平台,在pH=10的时候第二级电离逐渐产生,中性分子降至1%以下。在pH=11的时候一价 阴离子开始减少,二价阴离子迅速升高。pH接近14时溶液中Fluostatin基本上全部以二价阴 离子形式存在。

实验中研究者们发现,在pH=5以下时,Fluostatin的二聚化和脱酰基副反应均不可以发生,而在pH=6时即可以观察到Fluostatin二聚体的产生。Fluostatin在酸性条件下的稳定性说明在Fluostatin的二聚化不可以在全部酚羟基质子化的情况下进行,必须要在某种电离条件下才能发生。由湿实验结果对应的能够引发二聚化反应的pH范围,可以推测极有可能是Fluostatin在电离了部分酚羟基形成一价或二价阴离子后才能进行。实验中,为了验证酚羟基电离对于反应的影响,将O6与O7酚羟基用TMSCHN2试剂对Fluostatin J进行甲基化处理,发现当O6位酚羟基被甲基化处理形成甲氧基后,无法发生二聚化或脱酰基副反应,而当O7位酚羟基被甲基化处理后,仍然可以发生少量的脱酰基反应,但是却无法再观察到二聚化反应。根据上述实验现象可以做出如下的推断:

- (1) Fluostatin分子O6与O7两个酚羟基对于二聚化反应与脱酰基副反应有不同程度的影响。若酚羟基无法电离,二聚化反应与脱酰基副反应均会受阻。
- (2) 对于脱酰基副反应,O6位酚羟基至关重要,若其不能电离,比如被甲基化,会直接导致反应无法进行。相比之下,O7位酚羟基即使不能电离,脱酰基副反应仍然可以有少量发生。这提示O7酚羟基电离对反应难易成都确实有影响,但是即使不能电离,脱酰基副反应仍然可以进行。



(3) 对于二聚化反应,O6酚羟基与O7酚羟基的电离能力都是必不可少的。任何一方不能电离都会导致二聚化无法进行。由于二聚化反应与脱酰基反应都必须经过电子受体p-QM中间体,可以推断,O6酚羟基的缺失会导致p-QM中间体无法产生,而O7酚羟基的缺失虽然不会导致p-QM中间体完全不能产生,但是在后续的反应中,电子供体无法通过电离O7质子形成第一类定位效应更强、更富电子的氧负结构,二聚化反应变得更加困难。这样的双重因素导致二聚化反应在O7酚羟基被修饰后也不能进行。

### 2.2 不同质子化状态的脱酰氧基能量计算

由于脱酰氧基是二聚化反应得以进行的前提,必须确认在不同质子化条件下脱酰氧基反应的能量变化情况,来阐释*p*-QM是如何产生的。我们利用Gaussian 09<sup>[43]</sup>计算了C6、C7分别 连接O<sup>-</sup>、氢氧根、甲氧基的情况下脱酰氧基反应的自由能变(图2-4),如表3-1所示。



图 2-4 Fluostatin 的脱酰氧基过程(A)与 R<sub>1</sub>/R<sub>2</sub>=O<sup>-</sup>时的醌式产物结构(B)

	(1	R <sub>2</sub>						
$\Delta \mathbf{G}_{\mathbf{r}}$	$\Delta G_r$ (kcal/mol)		OH	OMe				
	0-	+8.3	$+19.1^{*}$	+36.9				
$\mathbf{R}_1$	OH	+19.3	+43	+42.7				
	OMe	+13.3	+39.2					

表 2-1 不同 R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>情况下脱酰氧基反应的反应自由能变

\*该情况下的产物构象不稳定, $R_2$ 位羟基的氢会自动转移至 $R_1$ 的氧原子上。

不难看出,不同的质子化状态、甲基化状态对该脱酰氧基反应有着非常重大的影响。当 R<sub>2</sub>为甲氧基时,无论R<sub>1</sub>是任何情况,反应吉布斯自由能变都非常高,在R<sub>1</sub>为O<sup>-</sup>时为+36.9 kcal/mol,在R<sub>1</sub>为OH时为+42.7 kcal/mol对于自由能升高的反应,由反应路径一般性质可知, 反应的活化能垒要高于反应的自由能变,也就是说反应的活化能均大于30 kcal/mol。由一般 常识可知这种活化能极高的反应非常难发生,说明当R<sub>2</sub>为OMe时反应非常难以发生。这会 导致后续被水加成的脱酰基复反应以及二聚化反应皆无法发生。

而当R<sub>2</sub>为没有电离的酚羟基时,情况略有不同。在R<sub>1</sub>为O<sup>-</sup>时,对脱酰氧基反应产物进行 优化,发现R<sub>2</sub>的羟基上的氢原子会自发转移到R<sub>1</sub>的O<sup>-</sup>结构上,从而形成与R<sub>1</sub>=OH,R<sub>2</sub>=O<sup>-</sup>情 况下(ΔG<sub>r</sub>=+19.3 kcal/mol)相同的产物。这两种情况下反应的产物相同,从反应自由能变得 微弱差异可以看出,R<sub>2</sub>被质子化而R<sub>1</sub>被电离情况下反应物得总能量要略高于质子在R<sub>1</sub>侧的反 应物。这说明质子在R<sub>1</sub>侧的反应物要更加稳定,即O6的酚羟基比O7位的酚羟基更容易电离。 这与我们对pK<sub>a</sub>的预测是一致的。而当R<sub>1</sub>为OH或者OMe时,与R<sub>2</sub>=OMe的情况一致,反应变 得极难发生。不难看出,当R<sub>2</sub>没有电离成O<sup>-</sup>时,其产物均是不能形成较为稳定的醌式结构, 因此产物能量很高,能垒也相应的升高,导致反应无法顺利进行。

第三种情况,当R2为已经电离的O<sup>-</sup>结构时,和之前未电离的OH与不能电离的OMe相比,



反应自由能变均有着显著的下降。相比于R<sub>2</sub>为OH的情况,R<sub>2</sub>为O可反应自由能变至少有10 kcal/mol的下降,非常显著。这说明产物形成醌式结构要稳定很多。在R<sub>2</sub>为O的基础上进一步纵向对比不同R<sub>1</sub>情况下的反应自由能变,可以看出,当R<sub>1</sub>也为O可反应的自由能变在所有情况下时最小的,为+8.3 kcal/mol,而R<sub>1</sub>为OH时反应的自由能变则为+19.3 kcal/mol。相差11.0 kcal/mol的自由能变差异显示出R<sub>1</sub>质子化状态的重要性。在R<sub>2</sub>已经确定为O<sup>-</sup>状态时,R<sub>1</sub>的质子化状态就尤为重要:只有R<sub>1</sub>也为O<sup>-</sup>时,反应才是最有可能发生的。

通过上述反应自由能变的计算,可以得知,R<sub>2</sub>的状态和R<sub>1</sub>的状态共同决定了反应是否容易进行,但是两者对反应难易的影响方式略有不同。R<sub>2</sub>的状态占优先地位:若R<sub>2</sub>不是O<sup>-</sup>结构, 无论R<sub>1</sub>是什么状态,反应的自由能变都非常高,导致反应不能顺利进行。只有当R<sub>2</sub>已经电离 了质子形成O<sup>-</sup>结构时,R<sub>1</sub>的状态才起决定性作用。

简单地说, R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>都为O<sup>-</sup>时反应才可以发生, 因为该情况下反应标准自由能变在当前考察的所有情况下是最低的, 比第二低自由能变得情况低至少10 kcal/mol。这一显著差异表明只有在R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>都为O<sup>-</sup>时反应才可能发生。

Huang等人假设提出的Fluostatin二聚化过程中*p*-QM的产生仅仅电离了O6酚羟基质子, 而O7酚羟基的仍保持质子化的酚羟基状态<sup>[24]</sup>。通过反应自由能变,我们可以知道该情况并 不准确。这种情况下反应标准自由能变为+19.3 kcal/mol,活化能应高于此值,在一般情况 下并不是特别容易发生。相比之下,当O6、O7的酚羟基均发生电离后,反应的自由能变下 降到了+8.3 kcal/mol,从能量角度讲相对而言更为合理,反应也相对容易进行。

### 2.3 二聚化反应过程的总结

根据3.1与3.2小节的pK<sub>a</sub>计算以及反应自由能变计算,总结电子供体与电子受体(*p*-QM)的形成过程。以Fluostatin D为例,在水溶剂中,Fluostatin D作为二元酸,可以发生分步电离。 其O6位与O7位的酚羟基的pK<sub>a</sub>分别为7.70与7.90。这两个酚羟基相对于苯酚的标准酚羟基更 容易电离,这是由于Fluostatin分子中存在2个羰基的吸电子作用通过共轭效应导致酚羟基氧 氢键电子密度下降,电离更为容易。O6位酚羟基相对于O7位酚羟基略微更容易电离,这是 由于分子的不对称性造成的:O6位酚羟基离C4位羰基更近,受到的吸电子效应更为强烈, 电离也相对更为容易。

在pH变化的情况下,Fluostatin D从pH=6左右发生第一级电离。O6与O7酚羟基基本同时 开始电离,其相应的一价阴离子占比在pH=10左右达到峰值,随pH的进一步升高在pH=14左 右由于二级电离下降至小于1%。原始中性Fluostatin D在pH=6时由于电离逐渐减少,在pH=10 时含量降低至1%以下。而二级电离在pH=10左右显著增加,在pH=14左右到达顶峰。总的来 说,在pH<6时溶液中主要以中性Fluostatin D为主,在pH为6到9之间时一级电离发生,9-11 之间为一价阴离子主导,11-14之间二级电离发生,pH>14时由二级电离产物二价阳离子主 导。

Fluostatin 的酚羟基质子化状态对后续反应有决定性的作用。通过研究 Fluostatin D 的 O6、 O7 的质子化、甲基化状态,我们发现两个酚羟基全部处于已电离状态时去酰氧基化才是最 容易的,因为这种情况下反应自由能变显著小于其他情况,且其数值在可以接受的范围内。

由于我们在计算不同质子化状态地情况下 Fluostatin D 地脱酰氧基反应自由能变时,计 算结果为在标准状态下地自由能变,实际情况下需要考虑稀释效应对反应自由能变化的影响。 在 pH=10 左右,二价阴离子的浓度大约是一价阴离子的 1/100~1/50,换算相应的能量校正 量加入标准反应自由能变,O6、O7 全部处于电离状态发生去酰氧基化反应的反应自由能变 仍然远小于其他情况。上述讨论说明虽然 Fluostatin D 在中性乃至弱碱性条件下大多以一价 阴离子形式存在,关键的脱酰氧基化反应必须是二价阴离子才能顺利发生。脱酰氧基反应完 成后,产物重新被质子化生成 p-QM 电子受体。



对于电子供体,考虑中性与弱碱性中的主要成分,O7 位电离的 Fluostatin D 一价阴离子 是作为电子供体的良好选择,因为当 O7 位电离后对左侧芳香环的定位效应会有加强,使得 左侧芳香环给出电子的能力更加增强。

上述描述可以总结为图2-5: Fluostatin D在中性以及弱碱性环境下在水溶液中电离出质子,O7位电离出质子后形成电子供体,而O6、O7均电离后的二价阴离子形成*p*-QM的前体,在脱酰氧基反应完成后再度质子化,称为电子供体。





在Fluostatin D形成了电子受体和电子供体后,两者在溶液中会相互接触并且形成π复合物。π复合物中两个分子并没有形成共价键,只是以非共价的方式结合在一起。在后面的分析中我们会看到,在形成π复合物后,电子供体的C1位与电子受体的C10'之间会形成碳碳键连接,并且C1、C10'的手性与图2-5中π复合物1-(R)-10'-(S)的手性一致。该立体选择性与位点选择性会在下面着重阐述。在碳碳键形成后,由于C10'的杂化类型发生变化,由原来的π复合物转变为σ复合物。由于打破了电子供体的共轭结构,σ复合物并不稳定。在外界溶剂作用下,σ复合物很容易地脱去C10'位地质子,从新恢复sp<sup>2</sup>杂化。同时共价二聚体分子会从新调整质子化状态,达到一个相对稳定地结构。到这里二聚化反应的主要步骤完成。

第 17 页 共 50 页



在形成稳定的共价二聚体(5)后,原先电子供体的酯键还可以发生一次脱酰氧基反应。 这会让原本的电子供体部分变成新的电子受体,而被水等其他的电子供体进攻。在实验中, 该位点会被水进攻,最后在Cl'位留下一个羟基。

### 第三章 基于电子软度特性的活性位点预测

### 3.1 电子软度简述

电子软度的概念可以由Pearson的酸碱理论(Hard and Soft Acids and Bases, HSAB)得来。 Pearson的理论中的酸或碱都可以分为硬和软两类。硬代表在酸碱反应中,静电作用占主导 作用,硬酸与硬碱通过静电相互作用反应,反应过程中酸和碱的电子结构变化较小,因此被 称作"硬酸"、"硬碱"。另一方面,软酸,软碱的相互反应时,分子轨道之间的相互作用 占主要因素,由于分子轨道之间的相互重叠、交错,导致两个片段的轨道混合生成新的轨道。 总体而言,由于轨道混合和电子的重新分布,体系的整体能量下降,因为反应得以发生。软 酸-软碱的相互作用并不是静电作用为主导,轨道的相互作用才是导致反应发生的关键。因 此,用合适的方法可以观测到酸和碱两个片段的电子结构发生明显的变化。HSAB理论认为, 硬酸和硬碱之间容易反应,而软酸与软碱之间容易反应。

电子软度的概念正是用来衡量软酸-软碱的软度性质。Yang和Parr曾经将分子的局部软 度定义为该处福井函数与全局软度的积<sup>[44]</sup>,但这只是对电子软度概念的一种定量化描述。 除了Parr的软度定义,还有很多具有明确物理意义的物理量可以反映分子的软度<sup>[45]</sup>。比如福 井函数、前线轨道理论、双描述符、平均局部离子化能、共轭结构的p<sub>2</sub>轨道布居数等等,都 可以反应分子的软度。注意这里软度并不是针对整个分子,而是分子所在的某一个空间区域, 某一个原子或某一根键:分子的结构不同,各处的软度也就不尽相同。结合上面所述的HSAB 理论,在亲电-亲核反应中,如果反应是软酸-软碱反应,即反应由电子软度所主导,那么利 用能够定量描述分子软度的物理量或描述符,也就可以定量确定不同位点、不同原子、不同 空间的软度性质。通过对比不同空间的软度性质,我们就能够知道哪些区域或原子的软度高, 哪些区域软度低。那么,软度高的区域就更容易成为软酸或软碱的相互作用的区域,我们也 就可以通过这种方法,判断出软酸-软碱的亲核-亲电反应的最佳反应位点。

### 3.2 前线轨道布居分析

前线轨道理论(Frontier Molecular Orbital Theory, FMO)是由福井谦一在1953年提出的<sup>[46]</sup>。 该理论是基于对两个分子之间相互反应时分子轨道的相互作用提出的。该理论的主要观点可 以概括为如下的几点:

- (1) 不同分子轨道的占据轨道之间相互排斥。
- (2) 一个分子的正电荷部分会吸引另一个分子的负电荷部分。
- (3) 一个分子的占据轨道会和另一个分子的非占据轨道(一般是HOMO和LUMO)会互 相作用产生吸引。

上述的第一条即类似于泡利互斥产生的位阻排斥,第二条所述的是有关电子硬度的部分, 即通过静电相互作用分子之间可以相互吸引或结合,第三条所描述的正是电子软度的特性: 分子的占据轨道和非占据轨道之间会产生相互作用,在相互作用后会导致轨道混合,最终引 起能量降低。



双分子之间相互作用导致的能量降低可以用Klopman-Salem方程<sup>[47,48]</sup>来表示:

$$\Delta \mathbf{E} = \left( -\sum_{a,b} (\mathbf{q}_a + \mathbf{q}_b) \beta_{ab} \, \mathbf{S}_{ab} \right) + \left( \sum_{k < l} \frac{\mathbf{Q}_k \mathbf{Q}_l}{\epsilon \mathbf{R}_{kl}} \right) + \left( \sum_r \sum_s^{\text{occ. unocc.}} -\sum_s^{\text{occ. unocc.}} \frac{2\left( \sum_{a,b} \mathbf{c}_{ra} \, \mathbf{c}_{sb} \, \beta_{ab} \right)^2}{\mathbf{E}_r - \mathbf{E}_s} \right)$$
(3-1)  
在该方程中:

日本フォロフォン

 $q_a$ 是电子在原子轨道a的布居;

 $\beta_{ab}$ ,  $S_{ab}$ 是原子轨道a与原子轨道b的共轭与重叠积分;

 $Q_k$ 是原子k的总电荷;

ε是局部介电常数;

R<sub>kl</sub>是原子k和l之间的距离;

cra是分子轨道r中原子轨道a的组成系数;

E<sub>r</sub>是分子轨道r所对应的能量。

Klopman-Salem方程对分子之间的相互作用有非常清晰的描述,首先,方程中的第一项, 表示两个分子之间闭壳层之间的位阻相互作用(steric effects),即占据分子轨道之间的排斥作 用。第二项是库伦静电势(electrostatic effects),描述静电相互作用,这个作用一般会使体系 的能量降低。第三项则是占据轨道和非占据轨道之间的相互作用(stereoelectronic effects)能量, 描述了两个分子的占据轨道和非占据轨道之间的相互作用所导致的能量下降。对于软酸-软 碱反应,显然第三个能量项时主导反应进行的。



对于第三个能量项,需要注意的是,当E<sub>r</sub>和E<sub>s</sub>的能量相接近时,整个第三能量项的绝对 值越大。即能量越接近的占据轨道和非占据轨道之间的相互作用带来的能量降低更为显著。 而对于两个分子,都具有他们各自的占据轨道和非占据轨道,在能相互作用的轨道之中,能 量差最小的组合无疑是一个分子的LUMO轨道和另一个分子的HOMO轨道相互作用,所贡献 的能量下降是最显著的。即分子间由于占据轨道-空轨道相互作用所导致的能量降低可以近 似地看作是前线轨道中占据轨道HOMO与非占据轨道LUMO之间相互混合所带来的能量下 降。

图3-1展示了软酸-软碱相互作用时前线轨道的相互作用的一种情况。一般情况下,是电子供体(软碱)的HOMO轨道与电子受体(软酸)的LUMO轨道之间发生作用,因为这一对占据-非占据轨道之间的能量差最小,其混合能够导致最大的能量下降。当软碱的HOMO与软酸的LUMO相互混合后,会产生反应复合物(产物)的前线轨道(HOMO和LUMO),因为要遵守分子轨道数目守恒的原则。

需要注意的是,软酸-软碱相互作用时分子轨道的相互混合并不是一对一的。实际上, 复合物的每一个轨道都可以被分解为每个片段轨道的线性组合。这一点将在讨论福井函数时 我们将重点讨论。



对于电子供体和电子受体,我们首先考察了他们的前线轨道。由于是电子供体的HOMO



轨道与电子受体的LUMO轨道相互混合最多,我们首先考察这两个轨道的分布。 图 3-2 前线轨道理论分析。电子受体的 LUMO 轨道(A)与电子供体的 HOMO 轨道(B)等值 面。受体各原子对 LUMO 轨道的贡献(C),供体各原子对 HOMO 轨道的贡献(D)。

分子轨道的格点数据由Multiwfn<sup>[49]</sup>导出,通过VMD<sup>[50]</sup>生成可视化图像可以看出,电子 供体与电子受体的前线轨道绝大部分分布在共轭平面的上下两侧,说明这些位于前线轨道中 的电子具有明显的π电子特征,并且在分子中有显著的离域特性。红色和蓝色部分分别代表 波函数的正相位部分和负相位部分。对于电子受体,LUMO轨道主要集中在分子靠右侧的共 轭平面上,主要覆盖在O4、O6、O11三个氧原子以及C4、C11、及其连接的六元环,以及 C1。LUMO的等值面告诉我们,当新的电子填入当前体系时,会填入LUMO轨道,而新的 能量最高的电子所占据的轨道,极大程度上类似与当前体系的LUMO轨道。即电子受体的分 子右侧部分更容易获得电子。同理,电子供体的HOMO轨道告诉我们当前体系能量最高的 电子所处的轨道大部分位于分子左侧六元环上,还有小部分位于6'、6a'、4a'等原子上面。 当电子供体给出电子时,将更容易从HOMO轨道布居数较大的区域发生转移,因此分子左 侧HOMO轨道分布较多的区域更容易给出电子。

为了通过前线轨道理论描述分子中每一个原子的亲核和亲电特性,我们将电子受体的 LUMO轨道和电子供体的HOMO轨道分解到其各自分子中的每一个原子的贡献上<sup>[51]</sup>(图3-2 C、D)。可以发现,在电子受体中,C1原子对前线轨道有非常显著的贡献,高达15.2%。 其他贡献较高的原子包括C6(10.3%),C11a(8.9%),C6a(7.3%)等,但是都没有C1 对受体分子LUMO的贡献高。这表明在反应过程中体系接受电子时,C1能够获得更多的电 子,因此具有较高的反应活性。同理对于电子供体,可以发现C6b',C10'原子对于HOMO 有重要的作用,由于C6b'已经没有H原子可供取代,不能作为亲电取代位点。虽然对于HOMO 有很大的贡献,但是无法作为反应位点。比较六元环上仍然有H原子存在的sp<sup>2</sup>杂化的碳原子, C10'对于HOMO的贡献高达11.4%,是最具有潜力的反应活性位点。

通过前线轨道的考察,我们发现,处于该体系的前线轨道的原子都具有明显的离域特性,属于非常典型的π电子离域。但是由于本系统包含4个环,很难通过经验判断方向性或者决定 立体选择性。计算化学结果显示出了电子供体和受体各自的前线轨道布居,并且我们成功将 前线轨道分解到每个原子上,给出了每个原子对前线轨道的贡献,并依据贡献值的大小,定



量给出了反应活性的大小。

### 3.3 福井函数与简缩福井函数的计算

福井函数(Fukui Function, FF)来源于概念密度泛函理论框架,最初由Parr和Yang等人在 1984年提出<sup>[52]</sup>。福井函数是密度泛函理论的一个核心概念,已经被广泛地用于各种反应位 点地预测与化学式地研究中。福井函数有两种等价地定义:

$$f(\mathbf{r}) = \left[\frac{\partial \mu}{\partial \nu(\mathbf{r})}\right]_{\mathbf{N}} = \left[\frac{\partial \rho(\mathbf{r})}{\partial \mathbf{N}}\right]_{\nu(\mathbf{r})}$$
(3-2)

该定义中, μ代表地是整个分子地化学势, ν(r)代表在空间r这一点原子核对电子产生的 吸引势。N代表体系中的总电子数。ρ(r)代表空间r这一点的电子密度。

从上述定义,我们不难发现,福井函数是一个实空间函数,对于任何一点r,都有给定的福井函数值。福井函数可以看成在电子数目一定时体系化学势对核吸引势的偏微分,也可以看成是吸引势一定的条件下,体系电子密度对电子总个数的偏微分。明显第二种定义更容易理解,也更容易通过计算手段获得。

由于体系的电子数目N并不是一个连续的实数,对其求偏微分意味着左右导数并不相同。 因此,对于同一个体系,福井函数存在两个值,他们分别是

$$f^{-}(\mathbf{r}) = \rho_{(N)}(\mathbf{r}) - \rho_{N-1}(\mathbf{r}) \approx \rho^{HOMO}(\mathbf{r})$$
 (3-3)

$$f^{+}(\mathbf{r}) = \rho_{(N+1)}(\mathbf{r}) - \rho_{N}(\mathbf{r}) \approx \rho^{LUMO}(\mathbf{r})$$
 (3-4)

即假设初始的体系带有N个电子,那么f<sup>+</sup>代表体系增加一个电子后空间电子密度发生的 变化,f<sup>-</sup>代表将一个电子从体系中抽离后,体系的电子密度改变量。

可以看出,当给体系添加一个电子后,该电子一般情况下会填充到体系原有的LUMO 轨道,而失去一个电子时,会填充到体系原有的HOMO轨道。因此,福井函数一定程度上 体现了HOMO和LUMO的性质。

对于电子受体,即亲电试剂,我们需要计算它的f<sup>+</sup>值,通过其分布,就可以看出在得到 电子时,哪些区域的电子密度有显著的变化,而对于电子供体,我们需要计算它的f<sup>-</sup>值,通 过它的分布我们就可以看出在哪些位点更容易给出电子。我们通过Gaussian产生相同坐标下 不同电子数目对应的体系波函数,计算电子密度的格点数据并做差得到电子密度差的格点数 据。



图 3-3 电子受体的福井函数 f<sup>+</sup>的等值面分布(A)与电子供体的福井函数 f<sup>-</sup>的等值面分布。以

第 21 页 共 50 页



#### 及电子受体每个原子的简缩福井函数着色图(C)和电子供体每个原子的着色图(D)。

从图3-3的A与B图可以看出,福井函数在空间上的分布与前线轨道有很多相似性:它们 的分布几乎以共轭平面对称。对于电子受体,当向其中添加一个电子后,处于右侧共轭环原 子的垂直方向出现了电子密度的增加,而在水平方向上,出现了电子密度的下降。而对于电 子供体,在一个电子脱离后电子密度的特征恰好相反:左侧共轭六元环的垂直方向上电子密 度下降,而水平方向上的电子密度升高。这恰好代表了电子供体位于分子左侧的能量最高的 π电子逃逸后导致多中心键的削弱。当该电子被电子受体接收时,电子受体的右侧共轭电子 云得到加强。

虽然福井函数与前线轨道有很多相似之处,明白它们之间的关联和区别是非常有必要的。 在量子化学计算中,轨道的概念与分子轨道的概念并不相同:计算得到的轨道只是一种数学 形式的表达,和人为指定的基函数的数目直接相关,并不是传统意义上由原子轨道通过线性 组合(Linear Combination of Atomic Orbitals, LCAO)的形式产生的。因此计算得到的分子轨道 只有理论意义,某些轨道,特别是能量高的空轨道,是并没有实际的化学意义的。而电子密 度是有明确物理学意义的量,可以基于密度泛函理论计算直接得到,因此更具有实际物理意 义。

由于福井函数是一个实空间函数,如果要研究每个原子的亲核亲电反应活性,我们需要 基于每一个原子一个独有的描述符。幸运的是,福井函数的简缩版本,简缩福井函数 (Condensed Fukui Function, CFF)正是对单个原子的描述。简缩福井函数描述的是每个原子的 原子空间内电子密度相对于电子数目的变化。原子电荷正是对原子空间内净电荷的直观描述。 由于存在不同类型的原子空间定义,也就对应着不同类型的简缩福井函数。由于Hirshfeld原 子空间划分方法在预测反应位点上有独有的优势,我们采用Hirshfeld原子电荷来计算简缩福 井函数。

为了计算简缩福井函数,我们使用和计算福井函数相同的波函数信息,利用Multiwfn软件计算不同电子数目下每个原子的原子电荷,然后再做差得到每个原子的简缩福井函数。图 3-3的C与D展示了电子受体与供体每个原子的简缩福井函数。可以发现,电子受体的C1、 O6等原子,以及电子供体的O7、C10'、C6b'等原子具有显著的福井函数值。原子电荷变化 直观说明,在得到电子/失去电子时,受体/供体的这些原子会有较大的原子电荷变化。从电 子密度的角度看,当电子数目发生变化时,这些原子周围的电子密度改变量非常显著。因此 我们认为这些原子是潜在的反应位点。

综上所述,福井函数非常好地体现出了电子数目发生变化时,体系电子密度发生的变化 幅度。结合福井函数等值面以及简缩福井函数结果,我们发现电子受体的C1等原子具有强 烈的亲电特性,而电子供体的C10'、C8'等原子表现出明显的亲核特性。

### 3.4 平均局部离子化能的计算

平均局部离子化能(Averaged Local Ionization Energy, ALIE)是另一种用于描述分子的电子软度的方法<sup>[53]</sup>。其定义如下:

$$\bar{I}(\mathbf{r}) = \frac{\sum_{i \in occ} \rho(\mathbf{r}) |\epsilon_i|}{\rho(\mathbf{r})}$$
(3-5)

其中ρ代表了体系中总的电子密度, ρ<sub>i</sub>代表了体系的第i个占据轨道对应的电子密度, 而ε<sub>i</sub> 表示第i个占据轨道对应的轨道能量。*Ī*(**r**)实际上是轨道能量在空间某一点上电子密度对于轨 道的加权平均。它代表了在空间中任何一点电子的电离能。如果某一点的*Ī*(**r**)的数值较大, 则说明电子难以从该点被电离,即该点具有强烈的吸电子效应。如果某一点的*Ī*(**r**)较小,则 说明从该点电离电子只需要较小的能量,相对容易。

对于当前体系,更容易给出电子的地方明显更容易发生亲核反应,而对电子牵引更强的

第 22 页 共 50 页



12.2

Fluostatin 生物合成中非酶二聚反应的化学选择性理论分析

14.0

12.0

10.0

位置,更容易发生亲电反应得到电子。因此,平均局部离子化能是对电子电离和捕获的一种 有很强物理学意义的衡量指标。

但是,平均局部离子化和电子密度、福井函数一样,是一个实空间函数。非常有必要将 实空间函数的数值和每一个原子一一对应起来。为实现这样的目的,我们考虑到分子之间相 互反应时,一般相互接触的位置为分子的范德华(Van der Waals, vdW)表面,因此,我们将平 均局部离子化能投影到分子的范德华表面上,并考察范德华表面福井的平均局部离子化能大 小。为达到这个目的,我们先计算全空间的平均局部离子化能,并通过分子表面分析将相应 的能量值投影到分子表面。



图 3-4 电子受体分子(A)与分子供体分子(B)两侧分子表面平均局部离子化能的分布着色图。 偏红区域表示平均局部离子化能高,偏蓝色区域表示平均局部离子化能低,局部极小值用 青色点标出,局部极大值用黄色点标出。星号表示分子表面的全局最大值或最小值。

通过考察分子表面的平均局部离子化能(ALIE)的分布,我们可以说明哪些位点是最具有 反应活性的。对于电子受体,我们着重考察ALIE较大的区域,因为这些区域更倾向于得到 电子,发生亲电反应。可以发现电子受体的两个共轭六元环的中心存在ALIE的极大值点, 这是因为构成共轭六元环的原子正上方与正下方都有大量的π电子密度,电子易于从此处电 离出,ALIE值较小,因此苯环中心其实是属于相对缺少电子的状态。除此之外可以看到酚 羟基的左右两侧均存在极大值点,以及在与分子的共轭平面侧面有相应的极大值点。非常明 显的是,在C11的垂直方向上,前后都存在ALIE的局部极大值点,为+16.0 eV。说明当电子 从这个位置被电离出时,需要平均+16.0 eV的能量驱动。而在其他之前用其他方式观测到的 反应位点,我们并没有看到相应的ALIE极大值点。因此,对于电子受体,我们通过ALIE仅 仅知道C11位点具有亲电活性。

对于电子供体,我们却可以看到非常不一样的结果。通过考虑ALIE的局部极小值点, 我们就可以知道电子容易从分子的什么地方脱离,即分子的亲核部位部位在哪里。可以看到,



电子供体的C10'、C8'、C6a'、C5'、C6'、C11a'等原子的上方或者下方都存在极大值点。极 大值分别是+10.2 eV, +10.0 eV, +10.2 eV, +10.6 eV, +11.1 eV和+11.1 eV。该数值越小说明电 子从该处被电离所需要的能量越小。因此我们可以认为,C8'原子的附近电子发生电离是最 有可能的,其次是C10'和C6a'。但是由于C6a'并不可能发生亲核取代反应,我们认为电子最 容易脱离、亲核效应最强的原子应该是C8'和C10'。

总结以上对平均局部离子化能在范德华表面上的分布讨论,我们的预测结果是电子受体的C11原子具有强烈的亲电活性,而电子供体的C8'、C10'原子最具有亲核性质。由ALIE在分子表面上的分析可以发现,只有少部分ALIE的极值可以和潜在的反应位点原子对应起来。还有许多原子并不能在范德华表面上找到与之相对应的极小值点。

### 3.5 基于电子软度的描述符预测结果对比与总结

上面,我们通过一系列基于电子软度的描述符,包括前线轨道布局、福井函数和简缩福 井函数以及平均局部离子化能,对可能的反应位点展开了全面的预测。这些描述符都是用来 衡量当反应发生时,电子供体和电子受体的电子密度发生变化的程度。虽然它们描述的目的 相同,预测结果却有比较大的差异。可以将它们的预测值整理如下表。

表 3-1 电子软度描	竹顶侧	
Descriptor	Donor	
FMO Population	C1, C6, C11a, C6a	C10'
(Condensed) Fukui Function	C1, C6, C11a	C10', C8'
ALIE	C11, C6	C8', C10', C5'

可以看出,不同的电子软度描述符所预测的反应活性位点并不完全相同。前线轨道理论与福井函数在预测结果上非常相近。在论述福井函数的性质的时候,已经具体讨论过其与前线轨道的总总关系,在这里不再赘述。前线轨道布局与福井函数都认为电子受体的C1,C6和C11a等原子拥有很强的亲电活性,而电子供体的C10'原子拥有明显的亲电活性。将受体与供体的前线轨道预测结果与福井函数预测结果整合,可以得到如图3-5的结果,可以看出两者的预测结果有很多相似性。



井函数值。前线轨道贡献平均值与简缩福井函数值以虚线的形式标出。

而通过分子范德华表面的平均局部离子化能来预测得到的结构并不是特别相同。由于分 子表面平均局部离子化能的极小值或者极大值点并不一定可以分配给某一个原子,有些原子 没有其对应的极大值或者极小值。通过平均局部离子化能来预测反应位点我们发现电子受体 的C11和C6有亲电性质,而电子供体的C8',C10'等原子具有亲核特性。对比这三种预测方 式我们可以发现,它们在预测电子供体的反应活性位点时都相对唯一。我们基本上可以确定,

第 24 页 共 50 页



反应位点很有可能就在在C10', C8'之中。

对于电子受体的反应位点预测,ALIE的预测精确性有待商榷,在所有可能的反应位点中,只有C11和C6有明确的ALIE极大值点与之关联。其他的反应位点均找不到相应的极大值点与之对应。

综合上面详细讨论的三种描述符给出的预测结果,我们猜测如果反应是由电子软度效应 驱动,那么碳碳键最有可能发生在C1-C10'之间。



### 第四章 基于静电效应的活性位点预测

### 4.1 经典效应简述

在第四章中,我们讨论了基于电子软度的预测方法,预测了电子供体和电子受体的反应 活性位点。然而,电子软度预测了在发生反应时,电子结构发生变化的程度。对于软酸-软 碱反应,这种预测方法非常有效。但是,我们同时也应该考虑静电效应在反应中发挥的作用。 如果反应是一个硬酸-硬碱反应,那么电子效应将在反应进行过程中起决定性作用。

静电效应即正负电荷相互吸引所产生的效应。在硬酸-硬碱的相互作用中,硬酸带有局 部正电,而硬碱带有局部负电。酸碱反应的发生是依靠库仑力导致两者相互结合并且发生反 应。由于两个分子之间依靠静电相互作用结合,电子结构并没有明显的变化。

若要基于静电效应对反应活性位点进行预测,我们需要对静电效应进行物理意义上严格的描述。在这里,我们使用另外3个描述符作为描述反应活性位点的静电效应的指标:原子电荷、静电势和电子密度。下面,我们通过计算这三者,预测基于静电效应的活性位点。

### 4.2 原子电荷的计算

原子电荷是计算化学中非常重要的一个概念,它将原子核与电子的效应统一起来,以原 子核处的一个点电荷的形式体现出来,描述了该原子带点的多少。原子电荷有许多实用价值, 包括预测反应位点、反应活性、建立分子力场、QM/MM计算等等,在计算化学与分子模拟 中起着重要的作用。

然而,原子电荷需要将原子核所带的电荷与它周围电子所带的电荷叠加起来。原子核"周围"的概念是非常模糊的,也可以存在不同的定义方式。因此,原子电荷也并不是唯一的,而是根据不同的布居方式和划分方法而异。原子电荷的计算方法也因方法而异,主要存在下面的几类原子电荷<sup>[54]</sup>:

- (1) 基于波函数的原子电荷。包括Mulliken<sup>[55]</sup>电荷、自然布居分析(Natural Population Analysis, NPA)电荷<sup>[56]</sup>等。其中Mulliken电荷的历史非常悠久,并且计算容易,已经 被大多数量化程序支持。但是Mulliken电荷不能在带有弥散函数的情况下计算,并 且会低估离子键,还有可能为负值,因此在某些特殊情况下并不是特别准确。
- (2) 基于静电势拟合的方法。这类方法通过在分子的范德华表面附近取一批拟合静电势的点,然后通过最小二乘法使静电势可以被最好地拟合,此时的原子电荷q就是基于静电势拟合方法得到的原子电荷。这一类方法包括MK电荷、CHELP/CHELPG<sup>[57]</sup>电荷、RESP电荷等等,这一类方法由于是基于静电势的拟合,因此对静电势的描述非常好。但是由于对静电势的拟合是在分子的范德华表面上进行的,对于复杂的分子,内部的原子的电荷在结构发生变化时,就可能出现较大的变化。因此这类原子电荷对于离分子表面较远的原子描述性较差。
- (3) 基于实空间下电子密度的划分方法。这种方法通过给每个原子分配一个原子空间, 然后计算原子空间中电子密度的积分。划分方法可以分为离散式划分、模糊式划分 和基函数划分。Hirshfeld划分<sup>[58]</sup>属于模糊式划分,原子空间并没有明确的边界。很 多其他常用的原子电荷比如ADCH电荷<sup>[59]</sup>、AIM电荷等也都是基于实空间下电子密 度的划分方法。



在这里我们选择了Hirshfeld划分方式计算原子电荷,也就是计算Hirshfeld原子电荷,因 为它在预测有机分子反应活性的问题上的表现非常优异。

为了探究电子受体和电子供体之间由于静电效应产生的硬酸-硬碱反应效应,我们采用 Hirshfeld原子空间划分方式,计算每个原子的Hirshfeld电荷。我们基于Gaussian在 M06-2X/6-311+G\*\*<sup>[60]</sup>级别下计算获得的波函数,利用Multiwfn计算Hirshfeld电荷,如图4-1



图 4-1 电子受体与电子供体的 Hirshfeld 原子电荷着色图(A, B),及电子受体与电子供体中部分原子的原子电荷(C,D)。

通过计算Hirshfeld电荷,我们发现在电子受体中C4、C6、C11原子的原子电荷显著高于 其他原子。这实际上是因为它们都是羰基碳原子,其相连的氧原子由于强电负性夺走了相连 羰基的大部分电子,导致羰基碳原子的周围的电子密度减小,表现出原子核的正电性。而对 于电子受体,由于其分子本身带有一个单位的负电荷,导致分子左侧的六元环上电子数目增 多,原子基本上都带上了部分负电荷。计算了所有原子的原子电荷后,我们比较了可以发生 亲电取代的可能反应位点C8'、C9'、C10'、C5'共4个位点的原子电荷。可以发现,C8'是4 个原子中带有最多负电荷的原子,其后是C10',而C9'和C5'的电负性则较低

在硬酸-硬碱的反应中,带局部正电荷越多的区域容易和带局部负电越多的区域结合。 也就是说,电子受体最有可能的反应位点是C4,而电子供体最有可能的反应位点是C8'。然 而需要注意的是,C4、C6、C11所带的局部正电荷都很大,且它们之间的区别较小。因此我 们只能认为C4、C6、C11都是潜在的亲电位点,其中C4的亲电性是最强的。对于电子供体, C8'、C10'、C9'、C5'的电负性并不相差很多,因此无法说明电负性较低的那些位点一定没 有亲核性。但是,依据原子电荷,可以得知C8'是最容易进行亲核进攻反应的。

通过上述讨论,我们认为通过原子电荷作为描述符,如果该二聚化的碳碳键形成步为硬酸-硬碱反应,则电子受体的C4、C6、C11原子与电子供体的C8'、C10'、C9'、C5'之间可能形成碳碳键。其中,碳碳键最容易形成在C4原子和C8'原子之间。



### 4.3 静电势的计算

与原子电荷相似,分子的静电势(Electrostatic Potential, ESP)也是分子的一个非常重要的特性。分子的静电势也是一个实空间函数:分子所处空间中的任何一个点有其对应的静电势<sup>[61]</sup>。

$$V(r) = V_{nuc}(r) + V_{ele}(r) = \sum_{A} \frac{Z_A}{|r - R_A|} - \int \frac{\rho(r')}{|r - r'|} dr'$$
(4-1)

即分子的静电势是由原子核的静电势和电子的静电势相互叠加产生的,对于空间中任何 一点的静电势,都需要计算每个原子核在其位置的静电势分量,求和得到原子核的静电势分 量。然后全靠空间积分,计算空间每一点的电子密度对该点的静电势并且叠加。由于涉及到 全空间积分,该计算非常耗时,一般利用Gaussian的附带工具Cubegen计算全空间的静电势 分布。

由于原子核都是带正点的,而电子都是带负电的,如果某一点的静电势为正值,则代表 这一点的静电势为原子核主导;相反,当静电势为负值,则说明此处的静电势为电子所主导。 在分子中,由于电子密度分布发生变化,即使是在电子富集的区域,静电势不能一定认为是 负值。但是,离分子内部、离原子核越近的地方,静电势往往为正。静电势为负的区域常常 是因为存在孤对电子、π电子等等电子富集的情况。

静电势直观地反应了体系地静电作用:电负性越大地区域,其静电势往往越低,而电正 性越大地区域,其静电势往往越高。而对于库伦引力,正电子总倾向于向静电势高的地区域 移动,而负电字总倾向于向静电势低的区域移动,因此才会导致分子相互作用结合。

但是,利用静电势来预测反应位点并不能仅仅计算分子空间内每一点的静电势:必须将 静电势的值分配到我们所关注的每一个原子上面。这里我们采取两种方法:

- (1)考察分子表面的静电势分布。由于分子相互作用仍发生在分子表面,我们认为分子的范德华表面的静电势最能表征分子间相互作用时,静电势发挥的作用。和考察ALIE时相似,我们同时也会考察分子表面静电势的极大值与极小值的分布。这些极值位点同样非常重要。
- (2)考察每一个原子关于共轭平面的上方和下方1.7 Å处的静电势值,并求二者平均值作为表征量(碳原子的范德华半径为1.7 Å<sup>[62]</sup>)。由于分子表面的静电势的极值点并不一定能够分配到每个原子上,我们需要一个确定存在的物理量来代表每一个原子的亲核特性和亲电特性。

我们利用在M06-2X/6-311+G\*\*级别下产生的波函数,采用Multiwfn+Cubegen工具的组合,计算体系空间的静电势,并对其进行分子表面投影分析。同时,我们将共轭平面的原子坐标拟合成一个标准的平面,在法向量方向上,我们确定每一个原子关于共轭平面上方与下方1.7 Å处的静电势,将同一个原子上方和下方的静电势平均处理,作为衡量该原子静电效应强弱的指标。







不难发现,电子供体与电子受体的分子表面静电势分布存在一定的规律。在氧原子靠外的分子表面,一般呈现明显的负静电势。环氧部分也呈现明显的负静电势。这是由于氧的孤对电子作用,导致该空间的静电势被其孤对电子所主导。而在其他区域,特别是电子受体的C1附近区域以及电子供体的R基团附近的原子,呈现出相对的正电性。这应该是由于氧原子的诱导效应,导致体系的电子集体向氧原子周围聚集,因此形成了偶极矩。

通过极大值点和极小值点观察,我们可以看到,电子受体的C6和C11原子的上方和下方 具有明显的静电势极大值(0.026 / 0.030 a.u.和0.034 / 0.030 a.u.)说明这里静电势较高,容易被



亲核试剂进攻。但是,对于电子供体而言,却看不到类似的极小值点存在。对比先前ALIE 分析的结果,我们认为,ALIE的实空间分布相比于ESP更为复杂,因为它每一处的值都与各 个轨道在其处的布居有密切的关系。而ESP在实空间上的分布要较为简单,虽然计算量更大。因此,ALIE的极值点数目要远大于ESP的极值数目多。

虽然我们无法从分子表面直观地看出哪些原子周围的静电势更大或者更小,我们可以通 过考察单个原子关于共轭平面上方或者下方的静电势来定量描述分子某一个原子的静电势 大小。将其中一些原子关于共轭平面的上方或者下方1.7 Å处的静电势绝对值求出,然后对 于上方和下方的静电势求平均,作为衡量某一个原子静电势的指标(图4-2 C, D)。

可以看出,在电子受体中,显示的9个可能的碳原子的平均静电势都是正值,而电子供体的4个原子所计算得到的平均静电势均是负值。这是由于电子供体由于O7的酚羟基发生电离,体系带有一个负电荷,导致总电子数大于原子核所带的总正电荷数,因此整体,特别是在范德华表面以及以外的区域,电子供体所表现出的静电势都将是负值。

利用分子平面上方或者下方的静电势描述原子静电势,我们发现对于电子受体,仍然是 C4、C6、C11三个原子表现出的静电势非常大,C1、C11a等原子的静电势紧随其后。就绝 对值而言,C4、C6、C11的静电势并没有比其他原子表现出更为明显的优势。

而对于电子供体,C8'具有最负的静电势,其次是C5'、C10'和C9'。需要注意的是,这 几个原子之间的静电势差异并不是特别大,因此静电势可能不能够准确地区分位点选择性地 问题。

综上所述,电子受体的C4、C11位碳原子具有较大的静电势,而对于电子供体,C8'原 子是具有非常负的静电势。这说明这些位点在发生硬酸-硬碱相互作用时有非常强的反应活 性,C4-C8'之间形成碳碳键是基于ESP分析最有可能的作用方式。

### 4.4 电子密度的计算

电子密度是另一个可以衡量体系静电效益的物理量。由密度泛函理论,电子密度可以决 定稳态体系一切的性质。同样,电子密度直接体现了体系哪些地方的电子多、哪些地方电子 少。一般认为,电子密度可以体现该处的亲核特性与亲电特性:电子密度越高,更容易给出 电子,也具有更高的负电荷;电子密度越低,越容易接受电子,也具有更高的电正性。 电子密度具有如下特性<sup>[54]</sup>:

(1) 电子密度在原子核处的变化并不是光滑的,即存在CUSP现象,其梯度并不连续<sup>[63]</sup>。

(2) 对于单个原子的体系,如果原子核电荷数为Z<sub>A</sub>存在以下规律:

(3)

$$\lim_{\mathbf{r}\to 0} \left[\frac{\partial}{\partial \mathbf{r}} + 2\mathbf{Z}_{\mathbf{A}}\right] \rho(\mathbf{r}) = 0 \tag{4-2}$$

r代表某一点离原子核的径向距离,p代表平均电子密度。

(4) 电子密度与离原子核的距离呈指数形式衰减:

$$\rho(\mathbf{r}) \propto \exp(-2\sqrt{2 \text{ IP}} \times \mathbf{r})$$
 (4-3)

其中, IP代表一级电离能。

分子的范德华表面就是由分子的电子密度等值面定义的,因此在使用电子密度预测反应 的活性位点时,我们不能通过考察分子的范德华表面上的电子密度来给出预测指标。因此, 我们只能通过考察每个原子在共轭平面上方或者下方的电子密度,来给与每个原子其预测的 描述符值。

和之前的ESP等描述符相似,我们计算电子受体的9个可能参与反应的C原子和电子供体的4个原子关于共轭平面上方和下方各1.7 Å处的电子密度并且进行平均比较。

#### 第 30 页 共 50 页





电子密度对于空间的任何一点都将是一个非负的值。对于接受电子的一方,电子密度越低的部位越容易获得外界给与的电子,而对于给出电子的一方,电子密度越高越容易给出电子。通过对电子受体和电子供体一共13个原子的考察,可以发现如下现象:

对于电子受体,其C4、C6、C11原子的电子密度要显著小于其他原子的电子密度。和原 子电荷的观察结果相同,这都表明了这三个羰基碳原子的电子被相邻的氧原子拽过去了,导 致这3个碳原子的电子密度显著下降,因此它们的原子电荷也明显高于其他原子。同时我们 注意到C1的电子密度比C4a,C5等原子稍微低一点,我们认为这是由于C1上的电子由于O4、 O6、O11的吸电子效应通过共轭系统传递到C1而导致的。

对于电子供体,C8'仍然被认为是电子密度最高的可以参与反应的碳原子。紧随其后的 是C10',同样也有比较高的电子密度。

因此,通过电子密度计算,我们发现电子受体的C4、C6、C11原子非常缺电子,因此有 很高的亲电活性。其中C4的亲电特性最高,这和本章先前的计算结果保持一致。电子供体 的C8'是最富电子的反应位点,因此有很高的亲核活性。需要注意的是电子受体C4、C6、C11 相对于其他原子的电子密度低,并且非常显著,而电子供体的4个原子之间的差异并不是特 别显著。

### 4.5 基于静电效应的描述符预测结果对比与总结

上面,我们通过研究电子受体与电子受体的三个物理量:原子电荷、静电势、电子密度, 对反应活性位点进行了预测。总的来说,静电效应的预测结果和电子软度的预测结果有非常 大的区别。表5-1具体一起展示了电子软度描述符的预测结果以及静电效应的预测结果。

Indicator	Acceptor	Donor							
FMO population Analysis	C1, C6, C11a, C6a	C10'							
(Condensed) Fukui Function	C1, C6, C11a	C10', C8'							
ALIE	C11, C6	C8', C10', C5'							
Atomic Charges	C4, C11, C6, C1	C8'							
Electrostatic Potential	C4, C11, C6	C8', C10'							
Electron Density	C4, C11, C6	C8', C10'							

### 表 4-1 电子软度与静电效应描述符对反应活性位点的预测结果。

其中,前线轨道分解、福井函数、平均局部离子化能是用来描述电子软度的描述符;原 子电荷、静电势、电子密度是用来描述经典效应的描述符。可以看出,对于电子软度与静电



效应对于反应活性位点的预测结果并不完全相同。对于电子受体,电子软度描述符认为C1、C6、C11等原子有非常高的亲电性,而静电效应则认为C4、C11、C6原子有较大的亲电性。可以看出,C1位点在反应为电子软度驱动时是一个非常强的反应位点,而在C11和C6两个原子既具有较强的电子软度,也具有强烈的静电效应。如果反应是由静电作用主导的,那么C1很难成为实际的反应位点。对于电子供体,预测结果普遍表示C10'、C8'是潜在的反应位点,其中C10'在前线轨道分析与福井函数分子中表现非常出色,而在其他描述符中,C8'是更有潜力的反应位点。我们可以猜测,在电子软度驱动的反应中,C10'是一个非常好的反应位点,而C8'在静电相互作用驱动的反应中将是首要的反应位点。

AL	_IE	C11	<b>C6</b>							C	5'	C10'	C8'	ALIE
Fukui Functi	ion	C1	<b>C</b> 6	C11	а							C8'	C10'	Fukui Function
FMO Contributi	ion	C1	<b>C6</b>	C11	а	C6a	1						C10'	FMO Contribution
Electroph	ilic 🧹													Nucleophilic
E	SP	C4	C11	C6								C10'	C8,	ESP
Electron Dens	sity	<b>C</b> 4	C11	<b>C</b> 6								C10'	C8'	Electron Density
Atomic Char	rge	<b>C</b> 4	C11	<b>C</b> 6	C1	L						C10'	C8'	Atomic Charge
图 4-4 不同措	<b>插述符</b> X	寸反)	<b>立活</b> (	生位,	名	り预	测结界	₹。	靠左	的」	原子	亲电性	赴强,	靠右的原子亲核
	性越强	。僧	长	方为	甩	子转	次度措	述	符,	下方	7为	静电效	应描述	符。

将两个分子独立开,不考虑分子间的相互作用,不了解反应的情况下,我们没有足够的 证据说明这个反应究竟是由电子软度驱动的还是静电效应驱动的。但是,通过我们对该反应 的己有理解,我们可以猜测这个反应究竟是电子软度驱动还是静电效应驱动的。对于一般的 Michael反应和芳香环上的亲核加成反应,其中一般存在碳原子在sp<sup>2</sup>和sp<sup>3</sup>之间的相互变换, 这种变化一定会造成电子结构的巨大改变与调整。从Pearson软硬酸碱理论看,我们研究的 碳碳键合成很大程度是是一个软酸-软碱反应。这并不代表该反应中没有静电相互作用的影 响,但导致碳碳键形成的步骤,极有可能是由于电子结构的快速变化导致的。从先前的实验 角度,我们也可以发现电子软度描述符对位点选择性实际上是有更好的描述效果。



### 第五章 二聚化碳碳键形成过程的能量考察

基于上述我们对反应活性位点的探究,我们找到了在电子软度或者静电效应驱动下,电 子供体和电子受体的潜在反应位点。但是我们的预测结果并不能直接说明位点选择性,并且 反应所表现出的立体选择性通过独立考察分子结构并不能解决。因此,我们需要探究二聚化 中碳碳键形成的关键步骤的能量变化。通过比较不同位点选择性和不同手性下反应的反应势 垒,以及反应的总吉布斯自由能变,可以判断究竟是哪一种位点选择性和立体选择性更容易 发生。

### 5.1 势能面扫描与过渡态搜寻

从初始的反应物Fluostatin D到电子供体和电子受体的过程是一个吉布斯自由能升高的 反应,但是对于任何位点选择性与立体选择性,都必然会经过这个步骤,因此这一步虽然会 影响整个反应的反应速率,但是并不关乎反应的位点选择性和立体选择性。



图 5-1 芳香环上亲电取代反应的一般微观反应机制<sup>[45]</sup>。

以芳香环上亲电取代反应的反应机理(图5-1)作为参考,可以明确Fluostatin二聚化过程的 微观步骤。在形成了电子受体和电子供体后,相当于亲电试剂和亲核试剂都已经存在,此时 在溶液中这两种分子发生碰撞并由于分子间的相互作用力吸引在一起,形成一个稳定的非共 价二聚物,即图5-1所示的π复合物。一般情况下芳香环的垂直方向上电子密度较大,因此亲 电实际会倾向于靠近这一片π电子云,形成复合物。这一步由于分子结合会放出热量,但是 熵也会相应地减少,吉布斯自由能升高或者降低并不能一概而论。在形成了π复合物后,复 合物可以选择解离,也可以选择进一步反应形成碳碳键。此处,亲电试剂E<sup>+</sup>,在本例中是电 子受体,会进攻芳香环上的一个碳原子,形成σ键,将该碳原子转化为sp<sup>3</sup>杂化类型的碳原子, 并且破坏整个芳香环上的π<sup>6</sup>g多中心键。此时形成的共价中间体复合物称为σ复合物。

由于6复合物的芳香性受到了破坏,该中间体并不稳定。由于被进攻的碳原子带有一个

第33页共50页



很好的离去基团:H原子,在溶剂的作用下H作为离子被脱去,相连的碳原子由sp<sup>3</sup>杂化从新 变为sp<sup>2</sup>杂化,芳香环的芳香性也因此恢复。因为芳香性的恢复,体系的能量会大幅下降, 最后形成稳定的取代产物。

亲电取代反应可能存在3个过渡态(Transition State, TS)。从完全分离的两个分子到形成 非共价二聚体,中间可能经历构象上的过渡态。随后,非共价二聚体π复合物通过碳碳键的 形成共价二聚体σ复合物。之其中存在一个过渡态。最后,被进攻的碳原子上的氢原子脱落, 芳香性恢复,形成稳定的取代产物。这一步去质子化过程存在一个过渡态。但是,考虑到第 一个过渡态涉及到的仅仅是构象上的变化,并且可能根本不存在,第三个过渡态介导的反应 非常容易发生,第二个过渡态才是真正决定反应的位点选择性的过渡态。因此,我们主要由 π复合物转化为σ复合物的过渡态,前后的过渡态在此处不具体探究。

电子供体和电子受体的可能反应位点都在共轭平面上。注意,电子供体和受体并不是以 共轭平面对称的:环氧基团和电子供体未脱去的酯基决定了分子并不是镜面对称的。因此, 在形成碳碳键时,碳碳键即可以形成在电子供体活性位点关于共轭平面的两侧,同时也可以 形成在电子受体活性位点关于共轭平面的两侧。因此,对于一种受体碳原子-供体碳原子组 合,一共存在4种不同的立体选择性反应方式。鉴于最后电子供体的碳原子失去氢离子,也 失去了手性,4种不同的立体选择性反应方式一共存在2种不同的立体选择性产物。



在第四章与第五章,我们重点阐述了基于电子软度和基于静电效应的反应位点预测结果。 综合起来看,我们选择C8'和C10'原子作为电子供体的反应位点,选择C1、C4、C6、C11作 为电子受体的活性位点。为了探究碳碳键是否可以在这些位点之间形成,我们通过构建 2×4×4=32种不同的σ复合物,并且在M06-2X/6-31G\*级别下进行优化,查看碳碳键是否 可以稳定存在。有趣的是,大部分构建的σ复合物发生了自发的解离,即碳碳键断开,从新 恢复到π复合物的状态。说明这些σ复合物能量非常高,无法稳定存在,即便形成,也会退回 到π复合物的结构。因此,我们认为这些不存在稳定σ复合物的位点与手性合成途径是无法进 行的。只有两组位点选择性组合C1-C10'和C1-C8'的一共8种产物可以稳定存在。

(金) 上海交通大学

在先前的基于静电效应的预测种,我们发现C4、C6、C11带有明显的正点,也同时非常 缺乏电子。但是基于σ复合物的优化我们发现这些位点并不能被电子供体进攻。我们认为, 这是因为电子受体是以对甲基醌(*p*-QM)的形式存在的,而*p*-QM相对于具有π<sup>e</sup>的六元环,并 不特别稳定。而当C4、C6、C11原子与其他原子成键时,电子受体并不能从*p*-QM结构恢复 到具有π<sup>e</sup>的六元环结构,因此生成的σ复合物的能量将非常高。而当C1参加反应时,C1从sp<sup>2</sup> 恢复到sp<sup>3</sup>,六元环也从醌式结构恢复到了六中心键的状态,因此能量得以快速下降。

因此,我们从最初的32种反应路径,简化到了现在可能的8种反应路径。他们的π复合物 以及生成的σ复合物的构象可以用图5-2直观表示。

基于上述结果,我们寻找图5-2中一共8种结构所对应的过渡态。在优化过渡态时我们发现,对于其中的一种位点与立体选择性,可能不止存在一个过渡态连接π复合物和σ复合物。 这是因为对于处于过渡态中的电子供体和电子受体,它们可以以将要形成的碳碳键为轴相对 旋转。在不同旋转角度下,可能存在多个不同的过渡态。因此,每个反应路径找出其一个过 渡态比较能量是欠妥的。我们需要对整个势能面有完整的了解,并且需要鉴别出每一个反应 路径中的每一个过渡态,选择能量最低的过渡态代表该反应路径的能量最低途径。因此,我 们使用势能面(Potential Energy Surface, PES)扫描的方法,对每一条反应路径的势能面进行扫 描,找到其能量最低的过渡态,并将其能量作为代表这条反应路径的过渡态的能量。

扫描过渡态的方式是针对新形成的碳碳键键长与一个可以衡量两个共轭平面相对扭转角的二面角扫描。对于C1-C10'的4种反应方式,我们扫描C1-C10'的键长B(1,10')和C11b-C1-C10'-C10a'定义的二面角D(11b,1,10',10a')。对于C1-C8'的四种成键方式,我们扫描C1-C8'的键长B(1,8')和C11b-C1-C8'-C9'定义的二面角D(11b,1,8',9')。键长从2.4 Å扫描到2.0 Å,步长为0.04 Å.而二面角扫描从0°扫描到330°,步长为30°。扫描格点通过二维样条函数平滑处理可以画出等值面图。



心三角形表示。

第 35 页 共 50 页



通过势能面扫描结果可以发现,虽然是相同的位点选择性,不同的立体选择性/手性对 应的势能面差异非常明显。在纵向上描述的是新形成的碳碳键的键长。因此,π复合物位于 势能面的上沿,σ复合物位于势能面的下沿,为了从π复合物出发形成σ复合物,反应会自发 寻找能量最低的途径,即能量最低的过渡态所在的途径。可以看到在势能面上都存在若干个 过渡态,但都仅有唯一的一个过渡态具有最低能量,该过渡态才是这条反应路径实际经过的



过渡态。

图 5-4 C1-C8'的四种反应方式对应的势能面。TS 用三角形标出,能量最低的 TS 用实心三角形表示。

图 5-5 C1-C10'的四种反应方式对应的准确过渡态构象。势能面扫描变量即绿色的共价键键 长以及 4 个绿色原子按顺序定义的二面角。

通过PES扫描,我们可以大致估计出能量最低的TS所对应的二面角大小与新形成的碳碳 键长度。基于此,我们通过过渡态优化找到了具有严格数学意义的过渡态。结构如图5-5与 图5-6所示(可视化使用CYLview软件包<sup>[64]</sup>)。







### 图 5-6 C1-C8'的四种反应方式对应的准确过渡态构象。势能面扫描变量即绿色的共价键键 长以及 4 个绿色原子按顺序定义的二面角。

可以发现,不同的反应路径对应的过渡态的结构有非常巨大的变化,一般情况下,分子 会倾向于保持共轭平面相互平行,并且保持最大程度的堆叠。在第七章我们将论证这种堆叠 效应对于过渡态能量的重大影响。

根据优化出的过渡态结构,我们通过内禀反应坐标计算和后续优化,得到了相应的反应 物和生成物,并且计算得到了反应物、过渡态、产物自由能。根据上述能量,我们得到了上 述八种反应途径的这一步反应的能量变化曲线。





需要注意的是。当电子供体和电子受体均产生后,即到达势能面0.0 kcal/mol的位置,电 子供体和电子受体可以以8种形式互相结合。这些结合均是非共价结合,所有这些π复合物可 以重新解离,然后调整结合姿态再次结合。

### 5.2 σ复合物的构象搜索

但是σ复合物并不是稳定的复合物。在外界作用下,电子受体的暂时sp<sup>3</sup>杂化的碳原子会进一步脱质子化,生成稳定的亲电取代产物。为了考虑完整的能量变化,有必要计算这一步的反应的自由能变。我们基于σ复合物的结构,将脱离的H移动到暂时没有被质子化的2个酚羟基的其中一个上,然后优化得到稳定结构。通过比较拓扑结构相同的亲电取代产物,我们取相同拓扑结构下能量最低的构象,认为它们是最稳定的构象。

对于o复合物的能量,我们通过构象搜索进行了进一步的优化。我们通过分子动力学模 拟对o复合物的构象进行搜索,并对其中较有可能的构象计算自由能并且比较,得到能量最 低的构象,并且把能量与TS直接对应的产物能量对比,取能量最低的构象代表o复合物的能 量。

### 5.3 不同碳碳键形成方式能量变化的比较与小结

从上述的反应能量曲线中,可以得到众多有价值的信息。首先,在8中不同的π复合物中, 1-(R)-10'-(S)这种位点和立体选择性所对应的复合物能量是最低的,这表明这种π复合物是最 稳定的。如果电子供体和电子受体在这8种π复合物之间相互转换,那么这一种π复合物将占

#### 第 37 页 共 50 页



上海交通大学 Shanghai liao Tong University

有优势。可以看到1-(R)-10'-(S)所对应的π复合物比其他π复合物低至少1.8 kcal/mol.

从过渡态的能量角度看,8条反应路径中,仍然是1-(R)-10'-(S)这种位点和立体选择性对应的过渡态能量是最低的(-0.5 kcal/mol)远小于其他过渡态能量,这说明这条反应的反应能垒也相对于其他反应路径的能垒更小。因此反应更容易发生。

1-(R)-10'-(S)的σ复合物并不是能量最低的,存在其他的σ复合物能量比1-(R)-10'-(S)的σ 复合物的能量低1 kcal/mol左右。但是σ复合物的能量并不是特别,因为它只是一个中间体。 但是对于稳定的亲电取代产物,我们发现1-(R)-10'-(S)的亲电取代产物是最稳定的。这说明 从热力学上看,1-(R)-10'-(S)仍然是具有优势的。

从能量变化角度,我们的计算说明1-(R)-10'-(S)的反应方式具有最稳定的π复合物,最稳定的过渡态以及最稳定的亲电取代产物。其他的反应途径都需要经过比1-(R)-10'-(S)途径更高的能量状态,因此相对更困难。根据Eyring方程<sup>[65]</sup>,我们可以通过过渡态能量,可以估算 生成产物的占比:

$$\frac{P_1}{P_2} = \exp\left(-\frac{\Delta G}{RT}\right) \tag{5-1}$$

可知,1-(R)-10'的手性产物占比大约有99.9%,说明该反应是一个选择性相当高的反应。 值得注意的是,在先前的实验中,观察到的产物结构都是1-(R)-10'的产物,并且HPLC结果 中并没有观察到其他位点或手性产物存在。因此我们的理论计算结果与实验中所观测到的位 点与立体选择性完全相符。



### 第六章 弱相互作用与化学选择性

在第六章中,我们成功利用量子化学计算,计算决定化学选择性的关键碳碳键形成步骤, 并目论证了1-(R)-10'-(S)反应路径在能量角度的优越性,因此证明了Fluostatin二聚化反应中 的位点选择性与立体选择性的能量基础。虽然都是二聚化反应,为什么在不同的位点选择性、 不同的立体选择性情况下,体系的能量变化为何有如此大的差异?为什么1-(R)-10'-(S)反应 路径的总体能量要显著低于其他反应路径的能量?我们认为这一定和不一样的分子结构有 极其紧密的关系。

为了探究分子结构与对应能量的关系,我们采用一系列方法探究分子间的弱相互作用, 尤其是π-π堆积作用在影响体系能量上的作用。并且揭示出π-π相互作用是如何通过影响体系 能量影响位点与立体选择性的。

### 6.1 基于内禀反应坐标的活化形变与相互作用分析

活化形变与相互作用分析,即Distortion / Interaction Analysis,或Activation Strain Analysis, 是用来研究反应过程中能量变化的一种方法<sup>[66,67]</sup>。这种方法尤其适用于分子之间相互反应, 且发生化学键的生成或者断裂的过程。活化形变和相互作用分析是依据内禀反应坐标为基础 的方法将体系的定义的,反应过程中总能量变化可以分解为由片段结构扭曲造成的能量升高 以及由于片段间相互作用所造成的能量降低,即:

> 80 1-(R)-10'-(S) 1-(R)-10'-(R)Distortion 60 40 Energy (kcal/mol) 20 0 IRC -20 -40 -60 -80 Interaction Bond Formation -100 -2 Ò Ż Ż 4 Ś -3 -1 Reaction Coordinates (Bohr)

 $\Delta E(\zeta) = \Delta E_{\text{strain}}(\zeta) + \Delta E_{\text{int}}(\zeta)$ 

(6-1)其中ζ代表反应坐标。在反应坐标的任意一点,能量变化能够分解为形变和相互作用造 成的能量变化之和。



计算右边的两项需要基于已有的IRC轨迹,然后通过以下计算方法计算:

$$\Delta \mathbf{E}_{\text{strain}} = [\mathbf{E}_1(\zeta) - \mathbf{E}_1(\text{free})] + [\mathbf{E}_2(\zeta) - \mathbf{E}_2(\text{free})]$$
(6-2)

$$\Delta E_{\text{int}}(\zeta) = E_{\text{total}}(\zeta) - E_1(\zeta) - E_2(\zeta)$$
(6-3)

第 39 页 共 50 页

● 上海交通大學

假设体系被分为2个片段,带ζ的项表示需要取IRC上得某一点得结构,计算总能量或者 单个片段在IRC中得能量,free项表示在孤立状态下完全优化得到的最低能量。

通过该方法,我们计算了2个反应路径在形成碳碳键时的相互作用能以及由于形变所导致的能量升高: 1-(R)-10'-(S)和1-(R)-10'-(R)。其IRC能量, ΔE<sub>strain</sub>和ΔE<sub>int</sub>如图6-1所示。

可以发现,对于IRC的能量,两种反应路径都是先升高再下降,符合IRC的一般规律。 对于因反应而造成的分子形变,二者都是沿IRC路径逐渐升高。这是由于反应进行过程中片 段的形变越来越大,计算单个片段的能量上升很快。而对于分子间的相互作用能,随着分子 越来越接近,分子的轨道间相互混合,导致能量降低,因此相互作用能会越来越负。

对比1-(R)-10'-(S)和1-(R)-10'-(R)各自的IRC曲线以及形变能量变化和相互作用能,我们 发现1-(R)-10'-(S)的IRC能量普遍比和1-(R)-10'-(R)的IRC能量低,虽然曲线的形状基本一致。 这个能量下降并不是由于分子的形变所产生的,因为形变的能量基本保持一致,其能量差的 平均绝对值仅有0.9 kcal/mol。这个能量下降是由分子间的相互作用造成的,相互作用能平均 差为6.8 kcal/mol.这一能量差直接导致了IRC能量的差异。

对比先前反应自由能数据,我们不难看出1-(R)-10'-(S)相对于1-(R)-10'-(R)的优势在于它存在更强的分子间相互作用。需要注意的是,分子间的相互作用能量差其实在IRC的反应物端和产物端都存在,并且能量差在整个IRC中的变化并不大。因此,该能量差描述的并不是随IRC越来越强烈的轨道相互作用,而是分子间的弱相互作用。

### 6.2 基于准分子近似的独立梯度模型弱相互可视化分析

为了探究电子供体和电子受体之间的相互作用,需要鉴别出分子间的弱相互作用类型以 及其各自存在的空间分布。

为了达到这一目的,我们使用基于准分子(promolecular)近似的独立梯度模型 (Independent Gradient Model, IGM)弱相互作用可视化分析对分子间的弱相互作用进行了空间分布上的定性考察<sup>[54, 68]</sup>。

一般情况下IGM的定义如下:

$$g(\mathbf{r}) = \left|\sum_{i} \nabla \rho_{i}(\mathbf{r})\right|, g^{IGM}(\mathbf{r}) = \left|\sum_{i} abs[\nabla \rho_{i}(\mathbf{r})]\right|$$
(6-4)

$$\delta g(r) = g^{IGM}(r) - g(r) \tag{6-5}$$

按照片段划分进行计算的话对于片段A,可以如此计算:

$$g^{\text{inter}}(\mathbf{r}) = \left| \sum_{A} \sum_{i \in A} \nabla \rho_i(\mathbf{r}) \right|$$
(6-6)

$$g^{IGM,inter}(\mathbf{r}) = \left| \sum_{\mathbf{A}} abs\left[ \sum_{i \in \mathbf{A}} \nabla \rho_i(\mathbf{r}) \right] \right|$$
(6-7)

基于此可以分开考虑分子间的弱相互作用以及分子内的弱相互作用:

$$\delta g^{inter}(r) = g^{IGM,inter}(r) - g^{inter}(r)$$
(6-8)

$$\delta g^{intra}(r) = \delta g(r) - \delta g^{inter}(r)$$
(6-9)

IGM分析还可以基于δ指数给出每个原子对分子间相互作用的贡献值大小。

基于IGM分析,我们将不同的π复合物的分子间的相互作用可视化展示(图6-2与图6-3)。 可以发现分子间的弱相互作用主要分布在分子间的区域,并且以色散相互作用为主。这是π-π 相互作用的典型特征。并且可以看出,π-π相互作用的覆盖面积对于每一种反应路径的π复合 物并不相同:如果分子间重叠的部分更多一些,则π-π相互作用相对更为强烈,而对于两个

第40页共50页



共轭平面扭转角在不合适位置的情况, 共轭平面在垂直方向上的重叠就小很多, 所体现出的 π-π相互作用也就弱得多。因此我们定性地认为π-π相互作用是整个体系分子间相互作用地主 体, 且π-π相互作用影响π复合物的总体能量。



1-(S)-8'-(R) 1-(S)-8'-(S) 图 6-3 C1-C8'对应的 4 种 π 复合物基于 IGM 的 π-π 相互作用可视化。绿色等值面表示 π-π 相互作用主要区域,红色深浅表示原子对 π-π 相互作用的贡献大小。



需要注意的是,IGM分析并不能提供明确的分子间相互作用的能量。虽然通过对比不同 情况中部绿色等值面的体积能够体现弱相互作用的强度,但是仍然达不到定量的要求。因此, 基于我们对π-π相互作用理解,我们需要采用其他方法定量研究π-π相互作用在不同体系中对 能量的贡献。

### 6.3 基于对称匹配微扰理论的弱相互作用能量分解

为了准确探究不同π复合物之间弱相互作用的不同,我们采用对称匹配微扰理论对弱相 互作用能展开分解,得到定量的结果。

对称匹配微扰理论(Symmetry-Adapted Perturbation Theory, SAPT)<sup>[69]</sup>是对分子间弱相互 作用进行能量分解最常用也最理想的方式。复合物的哈密顿算符可以写成单体分子自身的 Fock算符 $\hat{F}$ ,以及单体之间微扰算符 $\hat{V}$ 以及单体的微扰算符 $\hat{W}$ 的和:

$$\widehat{H} = \widehat{F} + \widehat{V} + \widehat{W} \tag{6-10}$$

而分子间的相互作用能可以无穷级展开,如果对于V和W分别考虑到i阶与i阶:

$$\Delta \mathbf{E} = \sum_{i=1,j=0} \Delta \mathbf{E}^{(ij)} \tag{6-11}$$

SAPT的耗时相对于HF高很多,即使是最低阶的SAPT: SAPT0的耗时也比一般的HF方法 要耗时多很多。为了研究不同π复合物之间弱相互作用能量的大小,我们使用Psi4软件包<sup>[70]</sup> 的SAPT功能,在SAPT0级别下使用aug-cc-pVDZ基组计算了8种π复合物的电子供体与电子受 体之间的分子间相互作用能,如图6-4所示。



SAPT0将分子间的相互作用分解为4个子项:静电相互作用(Electrostatic)、交换互斥 (Exchange)、色散作用(Dispersion)和诱导作用(Induction)。静电相互作用描述的是静电相互 作用的影响即库仑力主导的能量;交换互斥描述的是当分子间相互靠近时,占据轨道之间发 生重叠,根据泡利不相容原理产生的轨道之间的相互排斥:色散作用表示由色散力主导的相 互作用,诱导作用表述的是诱导效应导致的能量下降。

不难发现,对于 $\pi$ 复合物,色散作用占有明显的主导地位,远高于其他的能量项,如静 电效应项等。同时我们发现在本体系中交换互斥项是在弱相互作用中阻碍弱相互作用的因素。 正因为交换互斥的存在,分子间才会保持一定的距离。可以发现,对于色散项较大的π复合 物,它的交换互斥项也较大,但是总相互作用能也更大。

对于π-π相互作用,其本质即使色散相互作用,并不是轨道的相互作用。在上述分解中, 色散相互作用是所有相互作用项中最重要的一项,这正是 $\pi$ - $\pi$ 相互作用的本质特征。因此, SAPT0结果与IGM可视化结果相符合。证明该体系中π-π相互作用,即色散作用是起主导地 位的。

第42页共50页

上海交通大学 SHANGHAL HAD TONG UNIVERSITY

横向比较不同的π复合物的弱相互作用强度,可以发现1-(R)-10'-(S)对应的弱相互作用总 能量(Total)是全部π复合物中最低的,并且其色散相互作用也是最为强烈的。这说明π-π相互 作用的强弱影响了π复合物的能量高低。而不同π复合物的能量高低,足以影响其在体系中的 占比,从而直接影响到反应路径的选择。

需要注意的是,π-π相互作用并不是仅仅影响了π复合物的占比,对于过渡态而言,实际 上具有和π复合物几乎相同的构象,因此π-π相互作用对于过渡态的效应和π复合物基本一致。 因此我们猜测,π-π相互作用通过影响不同π复合物的能量,影响到了不同反应路径的能量变 化。π-π相互作用越强,则π复合物的能量倾向于越低,过渡态的能量一般也会相对更低。因 此反应也更有可能进行。

### 6.4 不同反应途径弱相互作用的对比与小结

通过对前述的8中反应路径的分子间弱相互作用进行考察,我们利用活化形变与相互作用分析、基于准分子近似的独立梯度模型弱相互可视化分析以及基于对称匹配微扰理论的弱相互作用能量分解,对反应过程中弱相互作用起到的作用有了较为清晰的认识。

首先,从π复合物开始直到σ复合物为止,分子间的弱相互作用以π-π堆积弱相互作用为 主体,π-π弱相互作用是导致电子供体和电子受体能够相互络合形成非共价二聚体的关键因 素。同时,π-π弱相互作用导致π复合体的能量由较大的差异,对于π-π相互作用更强烈的复 合体,例如1-(R)-10'-(S),其过渡态也更加稳定,因此反应途径更加容易进行。

可以认为,在这个体系中弱相互作用,尤其是π-π堆积作用,使主导反应路径的关键因素。不同π-π堆积的强弱直接影响了各个中间体以及过渡态的能量高低,因而间接决定了反应的位点选择性。



### 第七章 总结与展望

Fluostatin是一类非典型的Angucycline,它们含有一个Fluorenone发色团,并具有6-5-6-6型的特殊环形骨架。在其他化合物例如Lomaiviticin (以上名词均无中文译名)和醌那霉素 (Kinamycin)中也发现有类似的骨架。目前一共有13种Fluostatin被报道,其中A-E来自链霉菌, F-H来自宏基因组方法下的独立培养, I-K来自小单孢菌(*Micromonospora rosaria*) SCSIO N160, R, S来自在链霉菌*S. coelicolor* J1074中表达外源的*fls*基因簇。

Fluostatin二聚化的自发碳碳键形成,以及碳碳键形成的高度位点选择性与立体选择性, 暗示该共价二聚化反应具有非常特殊的性质。从理论上定量解释该反应的反应机理有助于加 深对碳碳键合成的了解,同时精确预测并解释位点选择性对于新二聚体设计,以及其他碳骨 架合成有着重要的理论意义。通过研究Fluostatin二聚化反应机理以及其位点选择性、立体选 择性的内在原因,一方面,我们希望能够拓宽碳碳键合成方法,以更简单的方法合成更复杂 的有机产物;另一方面,我们希望可以通过计算化学途径迅速、准确地预测位点选择性与立 体选择性,加速有机合成效率。

首先我们通过电子结构分子,探究了Fluostatin二聚化过程中,电子供体与受体的可能活性位点。我们使用波函数分析手段,通过计算前线轨道布居、福井函数、平均局部离子化能等描述电子软的的描述符,以及原子电荷、静电势、电子密度等描述经典效应的描述符,成功预测出了反应的活性位点。如果反应是由电子软度效应,即轨道相互作用驱动的,C1-C10'的碳碳键形成是比较容易发生的。如果反应是由静电效应驱动的,则C4-C8'之间的碳碳键形成是更有可能的。通过反应常识,我们认为亲电取代以及Michael反应均是有较大电子结构改变的反应,因此应该是以轨道相互作用为主,所有碳碳键的形成更容易发生在C1-C10'之间。这与实验观测结果不谋而合,证明了通过电子软度的相关描述符来预测反应位点的准确性与便捷性。

在反应活性位点预测的基础上我们采用量子力学能量计算的方法来检验我们的预测结果。我们选择C8'和C10'原子作为电子供体的反应位点,选择C1、C4、C6、C11作为电子受体的活性位点。为了探究碳碳键是否可以在这些位点之间形成,我们通过构建2×4×4=32种不同的σ复合物,并且在M06-2X/6-31G\*级别下进行优化,查看碳碳键是否可以稳定存在。最终我们发现只有C1-C10'与C1-C8'一共8种反应的σ复合物可以稳定存在,即反应只有8条反应路径。对这8条反应路径,我们再利用势能面扫描的手段搜寻到了每一条反应途径下能量最低的过渡态。通过计算过渡态自由能、反应物自由能以及产物自由能(在M06-2X/6-311+G\*\*/6-31G\*级别下),我们得知1-(R)-10'-(S)反应路径是能量最低的反应路径。它拥有最低的反应活化能,同时也具有能量最低的亲电取代产物。这使它成为了所有反应路径中最容易发生的反应机制。对于反应能量变化的解析同时告诉我们关于产物成分的信息。通过Eyring公式计算,我们得知在当前的计算级别下,通过1-(R)-10'-(S)路径所得到的1-(R)-10'手性产物占比大约99.9%,具有非常高的选择性。这与先前实验结果完全一致。因此我们定量阐释了位点选择性和立体选择性发生的能量基础。

基于能量计算的结果,我们希望知道,是什么原因导致不同的反应路径的能量差异如此 显著。我们利用活化形变与相互作用分析、基于准分子近似的独立梯度模型弱相互可视化分 析以及基于对称匹配微扰理论的弱相互作用能量分解,对反应过程中弱相互作用起到的作用 有了较为清晰的认识。弱相互作用分析发现,π-π堆积弱相互作用在反应中占有重要的作用。



**π**-π堆积的强弱直接影响了体系的总体能量,因为影响了反应物、过渡态等结构的能量。**π**-π 堆积越强的体系,其π复合物、过渡态等结构的能量也就相应越低。通过弱相互作用来决定 位点选择性和立体选择性相对而言是非常少见的,在工业生产中的应用也非常少。我们认为 在人工设计类似的反应时应当全面地考虑弱相互作用地影响,否则对于反应位点的判断并不 一定准确。同时,通过弱相互作用实现位点选择性合成或者手性合成也是一种在化学和生物 合成中非常有潜力的控制手段。在设计类似的反应时如果可以完整考虑弱相互作用,将能够 在没有相关催化剂,不引入其他定位基的情况下轻松合成特定手性或者位点选择性的化合物, 值得在后续研究和设计中进一步探索。

本项目还存在继续探究的空间。至目前为止,我们对位点选择性的能量机制以及能量背后的弱相互作用有了非常具体且可靠的认识。但是对于电子供体和电子受体的生成过程,还可以进一步探究。电子受体,即p-QM,是一个非常有价值的中间体。如果能加以利用,则可以合成更多骨架不同的小分子,在药物研发中具有巨大潜力。对于其的亲电性质,以及和其他富电子试剂的反应有待进一步研究。



参考文献

- [1] Tessier F J. The Maillard reaction in the human body. The main discoveries and factors that affect glycation[J]. Pathologie Biologie, 2010, 58(3): 214-219.
- [2] Deluca H F. History of the discovery of vitamin D and its active metabolites[J]. Bonekey Rep, 2014, 3(479).
- [3] Nakada H I, Weinhouse S. Non-enzymatic transamination with glyoxylic acid and various amino[J]. The Journal of biological chemistry, 1953, 204(2): 831-836.
- [4] Thanassi J W. Aminomalonic acid. Spontaneous decarboxylation and reaction with 5-deoxypyridoxal[J]. Biochemistry-Us, 1970, 9(3): 525-532.
- [5] Siddall T H, Stewart W E. Proton magnetic resonance studies of rotational isomerism around the 2-propyl-nitrogen bond in some thionamides[J]. The Journal of Organic Chemistry, 1970, 35(4): 1019-1022.
- [6] Keller M A, Piedrafita G, Ralser M. The widespread role of non-enzymatic reactions in cellular metabolism[J]. Current Opinion in Biotechnology, 2015, 34153-161.
- [7] Claisen L, Claparède A. Condensationen von Ketonen mit Aldehyden[J]. Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft, 1881, 14(2): 2460-2468.
- [8] Mehta A. Chemistry of Enolates C vs O Alkylation.
   https://pharmaxchange.info/2011/02/chemistry-of-enolates-c-vs-o-alkylation/ (06-01),
- [9] Mo F, Dong G. Regioselective ketone α-alkylation with simple olefins via dual activation[J]. Science, 2014, 345(6192): 68-72.
- [10] Commons W. Aldol condensation. https://en.wikipedia.org/wiki/Aldol\_condensation (06-01),
- [11] Commons W. Claisen condensation. https://en.wikipedia.org/wiki/Claisen\_condensation (06-01),
- [12] Commoms W. Michael reaction. https://en.wikipedia.org/wiki/Michael\_reaction (06-01),
- [13] Commoms W. Grignard reaction. https://en.wikipedia.org/wiki/Grignard\_reaction (06-01),
- [14] Commoms W. Wittig reaction. https://en.wikipedia.org/wiki/Wittig\_reaction (06-01),
- [15] McNaught A D, McNaught A D. Compendium of chemical terminology[M]. Blackwell Science Oxford, 1997.
- [16] Jacobsen E N, Marko I, Mungall W S, etc. Asymmetric dihydroxylation via ligand-accelerated catalysis[J]. J Am Chem Soc, 1988, 110(6): 1968-1970.
- [17] Kolb H C, VanNieuwenhze M S, Sharpless K B. Catalytic asymmetric dihydroxylation[J]. Chemical Reviews, 1994, 94(8): 2483-2547.
- [18] Gonzalez J, Aurigemma C, Truesdale L. Synthesis of (+)-(1S, 2R)- and (-)- (1R, 2S)-trans- 2- Phenylcyclohexanol Via Sharpless Asymmetric Dihydroxylation (AD) Cyclohexanol, 2-pheny 1-,(1S- trans)- and Cyclohexanol, 2- phenyl-,(1R- trans)- [J]. Organic syntheses, 2003, 7993-93.
- [19] Ding Y, Zhang C, Zhang L, etc. Molecular engineering of organic electroactive materials for redox flow batteries[J]. Chemical Society Reviews, 2018, 47(1): 69-103.
- [20] Yang C, Huang C, Zhang W, etc. Heterologous Expression of Fluostatin Gene Cluster Leads to a Bioactive Heterodimer[J]. Org Lett, 2015, 17(21): 5324-5327.



- [21] Kharel M K, Pahari P, Shepherd M D, etc. Angucyclines: Biosynthesis, mode-of-action, new natural products, and synthesis[J]. Natural product reports, 2012, 29(2): 264-325.
- [22] Woo C M, Beizer N E, Janso J E, etc. Isolation of lomaiviticins C E, transformation of lomaiviticin C to lomaiviticin A, complete structure elucidation of lomaiviticin A, and structure–activity analyses[J]. J Am Chem Soc, 2012, 134(37): 15285-15288.
- [23] He H, Ding W-D, Bernan V S, etc. Lomaiviticins A and B, Potent Antitumor Antibiotics from Micromonospora lomaivitiensis[J]. J Am Chem Soc, 2001, 123(22): 5362-5363.
- [24] Huang C, Yang C, Zhang W, etc. Molecular basis of dimer formation during the biosynthesis of benzofluorene-containing atypical angucyclines[J]. Nat Commun, 2018, 9(1): 2088.
- [25] Proteau P J, Li Y, Chen J, etc. Isoprekinamycin is a diazobenzo [a] fluorene rather than a diazobenzo [b] fluorene[J]. J Am Chem Soc, 2000, 122(34): 8325-8326.
- [26] Mithani S, Weeratunga G, Taylor N J, etc. The kinamycins are diazofluorenes and not cyanocarbazoles[J]. J Am Chem Soc, 1994, 116(5): 2209-2210.
- [27] Gould S J, Tamayo N, Melville C R, etc. Revised structures for the kinamycin antibiotics: 5-diazobenzo [b] fluorenes rather than benzo [b] carbazole cyanamides[J]. J Am Chem Soc, 1994, 116(5): 2207-2208.
- [28] Omura S, Nakagawa A, Yamada H, etc. Structures and biological properties of kinamycin A, B, C, and D[J]. Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 1973, 21(5): 931-940.
- [29] Baur S, Niehaus J, Karagouni A D, etc. Fluostatins C~ E, Novel Members of the Fluostatin Family Produced by Streptomyces Strain Acta 1383[J]. The Journal of antibiotics, 2006, 59(5): 293.
- [30] Akiyama T, Harada S, Kojima F, etc. Fluostatins A and B, New Inhibitors of Dipeptidyl Peptidase III, Produced by Streptomyces sp. TA-3391[J]. The Journal of antibiotics, 1998, 51(6): 553-559.
- [31] Feng Z, Kim J H, Brady S F. Fluostatins Produced by the Heterologous Expression of a TAR Reassembled Environmental DNA Derived Type II PKS Gene Cluster[J]. J Am Chem Soc, 2010, 132(34): 11902-11903.
- [32] Zhang W, Liu Z, Li S, etc. Fluostatins I–K from the South China Sea-derived Micromonospora rosaria SCSIO N160[J]. Journal of natural products, 2012, 75(11): 1937-1943.
- [33] Herzon S B, Lu L, Woo C M, etc. 11-Step enantioselective synthesis of (-)-lomaiviticin aglycon[J]. J Am Chem Soc, 2011, 133(19): 7260-7263.
- [34] Lei X, Porco J A. Total synthesis of the diazobenzofluorene antibiotic (-)-kinamycin C[J]. J Am Chem Soc, 2006, 128(46): 14790-14791.
- [35] Nicolaou K C, Li H, Nold A L, etc. Total synthesis of kinamycins C, F, and J[J]. J Am Chem Soc, 2007, 129(34): 10356-10357.
- [36] Yu M, Danishefsky S J. A Direct Route to Fluostatin C by a Fascinating Diels- Alder Reaction[J]. J Am Chem Soc, 2008, 130(9): 2783-2785.
- [37] Waldman A J, Balskus E P. Lomaiviticin biosynthesis employs a new strategy for starter unit generation[J]. Org Lett, 2014, 16(2): 640-643.
- [38] Wang B, Guo F, Ren J, etc. Identification of Alp1U and Lom6 as epoxy hydrolases and implications for kinamycin and lomaiviticin biosynthesis[J]. Nature communications, 2015, 67674.
- [39] Wang B, Ren J, Li L, etc. Kinamycin biosynthesis employs a conserved pair of oxidases for B-ring contraction[J]. Chemical Communications, 2015, 51(42): 8845-8848.
- [40] Bukharov S V, Syakaev V V, Pod"yachev S N, etc. Solvolysis of



3,5-Di-tert-butyl-4-hydroxybenzyl Acetate in Alcohol Solutions[J]. Russian Journal of General Chemistry, 2002, 72(6): 924-927.

- [41] 卢天. 第六届北京科音基础量子化学培训班讲义[M]. 北京: 北京科音自然科学研究中心, 2019.
- [42] Marvin. 19.9.0. ChemAxon. ChemAxon. 2019.
- [43] Gaussian 09. Revision D.01. Frisch M J, Trucks G W, Schlegel H B, etc. Gaussian, Inc. Wallingford, CT 2016.
- [44] Berkowitz M, Parr R G. Molecular hardness and softness, local hardness and softness, hardness and softness kernels, and relations among these quantities[J]. The Journal of Chemical Physics, 1988, 88(4): 2554-2557.
- [45] 付蓉, 卢天, 陈飞武. 亲电取代反应中活性位点预测方法的比较[J]. 物理化学学报, 2014, 30(4): 628-639.
- [46] Fukui K, Yonezawa T, Shingu H. A molecular orbital theory of reactivity in aromatic hydrocarbons[J]. The Journal of Chemical Physics, 1952, 20(4): 722-725.
- [47] Klopman G. Chemical reactivity and the concept of charge- and frontier-controlled reactions[J]. J Am Chem Soc, 1968, 90(2): 223-234.
- [48] Salem L. Intermolecular orbital theory of the interaction between conjugated systems. I. General theory[J]. J Am Chem Soc, 1968, 90(3): 543-552.
- [49] Lu T, Chen F. Multiwfn: a multifunctional wavefunction analyzer[J]. J Comput Chem, 2012, 33(5): 580-92.
- [50] Humphrey W, Dalke A, Schulten K. VMD Visual Molecular Dynamics[J]. Journal of Molecular Graphics, 1996, 1433-38.
- [51] Tian L, Feiwu C. Calculation of molecular orbital composition[J]. Acta Chim. Sinica, 2011, 692393-2406.
- [52] Bultinck P, Fias S, Van Alsenoy C, etc. Critical thoughts on computing atom condensed Fukui functions[J]. The Journal of chemical physics, 2007, 127(3): 034102.
- [53] Politzer P, Murray J S, Bulat F A. Average local ionization energy: a review[J]. Journal of molecular modeling, 2010, 16(11): 1731-1742.
- [54] 卢天. 第四届量子化学波函数分析与 Multiwfn 程序培训班讲义[M]. 北京: 北京科音自然科 学研究中心, 2018.
- [55] Mulliken R S. Electronic population analysis on LCAO–MO molecular wave functions. I[J]. The Journal of Chemical Physics, 1955, 23(10): 1833-1840.
- [56] Chen Z, Wannere C S, Corminboeuf C, etc. Nucleus-independent chemical shifts (NICS) as an aromaticity criterion[J]. Chemical reviews, 2005, 105(10): 3842-3888.
- [57] Breneman C M, Wiberg K B. Determining atom-centered monopoles from molecular electrostatic potentials. The need for high sampling density in formamide conformational analysis[J]. Journal of Computational Chemistry, 1990, 11(3): 361-373.
- [58] Hirshfeld F L. Bonded-atom fragments for describing molecular charge densities[J]. Theoretica chimica acta, 1977, 44(2): 129-138.
- [59] Lu T, Chen F. Atomic dipole moment corrected Hirshfeld population method[J]. Journal of Theoretical and Computational Chemistry, 2012, 11(01): 163-183.
- [60] Zhao Y, Truhlar D. The M06 suite of density functionals for main group thermochemistry, thermochemical kinetics, noncovalent interactions, excited states, and transition elements: two new functionals and systematic testing of four M06 functionals and 12 other functionals[M]. 2008:



215-241.

- [61] Murray J S, Politzer P. Electrostatic potentials: chemical applications[J]. Encyclopedia of computational chemistry, 2002, 2.
- [62] Bondi A. van der Waals Volumes and Radii[J]. The Journal of Physical Chemistry, 1964, 68(3): 441-451.
- [63] Kato T. On the eigenfunctions of many-particle systems in quantum mechanics[J]. Communications on Pure and Applied Mathematics, 1957, 10(2): 151-177.
- [64] CYLview. 1.0b. Legault C Y. Legault, C. Y. Université de Sherbrooke 2009.
- [65] Eyring H. The activated complex in chemical reactions[J]. The Journal of Chemical Physics, 1935, 3(2): 107-115.
- [66] Wolters L P, Bickelhaupt F M. The activation strain model and molecular orbital theory[J]. Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science, 2015, 5(4): 324-343.
- [67] Bickelhaupt F M, Houk K N. Analyzing reaction rates with the distortion/interaction-activation strain model[J]. Angewandte Chemie International Edition, 2017, 56(34): 10070-10086.
- [68] Lefebvre C, Rubez G, Khartabil H, etc. Accurately extracting the signature of intermolecular interactions present in the NCI plot of the reduced density gradient versus electron density[J]. Physical Chemistry Chemical Physics, 2017, 19(27): 17928-17936.
- [69] Jeziorski B, Moszynski R, Szalewicz K. Perturbation theory approach to intermolecular potential energy surfaces of van der Waals complexes[J]. Chemical Reviews, 1994, 94(7): 1887-1930.
- [70] Parrish R M, Burns L A, Smith D G A, etc. Psi4 1.1: An Open-Source Electronic Structure Program Emphasizing Automation, Advanced Libraries, and Interoperability[J]. Journal of Chemical Theory and Computation, 2017, 13(7): 3185-3197.



### 致谢

历经一年多的本科毕业设计已经进入尾声,近半年的实验室的学习与生活让我对科研有 了更深的了解与体会,在学士学位论文即将完成之际,我由衷地向我的老师、同学、家人和 朋友们表示感谢。

首先,要感谢我的指导老师赵一雷教授对整个实验室的关怀与支持,为我们提供了良好 的科研环境。赵老师严谨求实的治学态度、崇高的敬业精神与负责的工作作风、兢兢业业、 孜孜不倦的对待科研的态度对实验室的每个人产生了影响,我也耳濡目染,潜移默化地吸取 了其中的养分。赵老师对于实验室人员的工作进度十分关注并在适当的时候提供思路上的指 导。此外每周一次的学术汇报与交流会也为大家提供了交流和锻炼的机会,通过组会不但活 跃了科研的氛围、锻炼了自己的沟通表达能力,也从其他师兄师姐们的报告中受益匪浅。

其次,要感谢石婷老师在我的毕设过程中对我的亲切关怀和悉心指导。石老师不但会细 心询问课题进展情况,也会与我一起讨论课题研究思路,研究方案及方法问题,并在适当的 时候给予帮助与指导;石老师对我的课题提出的指导意见让我受益匪浅;平时生活中石老师 也对整个实验室的事务亲力亲为,负责的工作态度与细致的对待科研的态度也深深影响了我。

再次,要感谢实验室刘岚轩学长、刘雷学姐、李甲乙学长、骆声淦学长在计算模拟方面 对我的帮助;要感谢范烁冰学姐、陈煦学长在背景知识等相关问题对我的帮助;要感谢黄强 学长、韩振鑫学长、万海波学长在几次组会上的交流。要特别感谢的是李甲乙学长和骆声淦 学长,在计算化学方向上将我带入门,并且向我推荐了众多有价值的资料和学习机会。

同时,要特别感谢北京科音自然科学研究中心的卢天老师,在理论基础和计算方法上给 了我极大的帮助。卢天老师治学严谨、知识广博,亲自教学,为中国乃至全球的量子化学发 展和推广做出了极大的贡献。能够在量子化学、分子动力学和波函数分析方向共4次参加培 训,接受卢天老师的教导,是我的荣幸。感谢卢天老师为我搭起坚实的分子模拟与量子化学 基础,并且为我树立起了优秀量化研究者应有的学术标杆。

除此之外还要感谢王如凡同学、李琛同学和张海军同学在日常生活中对我的陪伴以及我 们共同在实验室经历的一年多的时光,感谢他们对我的支持与鼓励,在我懈怠的时候督促我, 在我遇到困难的时候鼓励我。

最后要感谢我的家人亲友们对我的支持与鼓励,感谢上海交通大学四年以来对我的培养 以及提供优质的科研学习与生活娱乐条件,感谢在这片校园里度过四年的快乐时光。



## THEORETICAL INVESTIGATION ON SPECIFIC CHEMOSELECTIVITY OF NON-ENZYMATIC DIMERIZATION IN FLUOSTATIN BIOSYNTHESIS

Fluostatins, a group of benzofluorene-containing angucyclines that widely exists in nature, are subjective to spontaneous non-enzymatic dimerization in aqueous environment. Interestingly, the dimerization process is highly regio- and stereoselective, yielding great application potential for precise synthesis of similar carbon backbones. To understand the regio- and stereoselectivity involved in the dimerization process, computational and theoretical methods are used to examine the structural and energetical characteristics that make the chemoselectivity possible.

First, the formation of electron donor and acceptor has been examined. The deprotonation of phenol groups at O6 and O7 has been studied by estimating the  $pK_a$  value for these two phenol groups. It's shown that phenol group at O6 has a  $pK_a$  of 7.70 and phenol group at O7 has a  $pK_a$  of 7.90, which means the deprotonation of phenol group at O6 is easier than that at O7. According to  $pK_a$ , we can calculate the species distribution of Fluostatin D and its derived anions in water with changing pH. To understand how Fluostatin D deacyloxylates to form *p*-QM, which acts as electron acceptor, quantum mechanical (QM) calculations are carried out to calculate the free energy change of deacyloxylation under different protonation status. Free energy change of the reaction shows that deprotonation when both phenol groups are deprotonated is the most favorable. The deacyloxylation reaction denotes a +8.3 kcal/mol increase in free energy of the overall reaction.

Second, electronic structural analysis on electron donor and donor has been carried out to reveal potential reaction sites capable of forming covalent bonds between electron acceptor and donor. Frontier molecular orbital decomposition, Fukui function, averaged local ionization energy have been calculated to evaluate the electron softness at different sites or atoms. Likewise, electrostatic potential, atomic charge and electron density have been calculated to represent the electrostatic effects of reactive sites. Electron softness indicators show that C1, C4, C6, C11 of acceptor and C10', C8' of electron donor are potential active sites. However, electrostatic effects indicators tell different results. These indicators show that C4, C6, C11 of acceptor and C8' of donor are good sites for reaction. To sum up, electron softness indicators suggest best carbon-carbon coupling between C1-C10' atoms but electrostatic indicators suggest C4-C8' coupling. Pure predictions are very useful to narrow down the search scope, but energy calculations are needed to solidify the prediction results.

Third, free energy calculations are carried out to investigate which atom combinations are suitable for dimerization. For each atom combination, 4 distinct stereoselective reaction routes exist. Attempts have been made to verify the stability of  $\sigma$ -complexes, which are the direct product of carbon-carbon bond formation. Optimization of  $\sigma$ -complexes shows that only C1-C10' and C1-C8' couplings are allowed, ruling out other possible combinations. For the 8 reaction poses of



C1-C10' and C1-C8' coupling, potential energy surface scans have been carried out to find the transition state with the lowest energy. Full optimizations have been done with the configuration of  $\pi$ -complexes, transition states and  $\sigma$ -complexes. The energy profiles of the regio- and stereoselective step are revealed. Coupling pose C1-(R)-C10'-(S) is shown to have the most stable  $\pi$ -complex, transition state, and the electrophilic substitution product. The energy barrier for C1-(R)-C10'-(S) is also the lowest, suggesting that this reaction path is favored thermodynamically and kinetically. Previous experiments have already demonstrated the preference of C1-C10' coupling and that the chirality for C1 is R, which is consistent with our computational explanation. Moreover, we demonstrated that C10' is involved in reaction in S chirality, which cannot be easily observed in experiments.

To understand the structural basis behind the difference of energy profiles, weak interaction analysis has been carried out. Distortion / Interaction analysis has been performed to analyze the origin of energy difference of intrinsic reaction coordinates. Intermolecular interactions have been shown to play a crucial part in altering the energy of the system. IGM visualization of weak intermolecular interactions revealed the existence of significant  $\pi$ - $\pi$  stacking effects, which differs in distinct  $\pi$ -complexes. To quantitatively study the effects of  $\pi$ - $\pi$  stacking, SAPT analysis has been conducted to decompose intermolecular interactions into different terms. Dispersion energy accounts for the bulk of intermolecular interaction, which is typical of  $\pi$ - $\pi$  stacking. Also,  $\pi$ -complex of C1-(R)-C10'-(S) has the strongest intermolecular interactions, and the strongest  $\pi$ - $\pi$ stacking effects. This suggests that  $\pi$ - $\pi$  stacking influences the energy and stability of reactants, and possibly transition states. The reaction pose that incorporates the most intermolecular interactions might have the lowest energy profiles. Hence,  $\pi$ - $\pi$  stacking is important in the regioand stereoselectivity of Fluostatins as it alters the energy of different reaction poses.

In this research, the non-enzymatic dimerization of fluostatin D has been investigated in detail by theoretical and computational chemistry, with a strong emphasis on regio- and stereoselectivity. Through electronic structural analysis, we are able to predict reaction sites based on electron softness and electrostatic interactions. The predictions are quite accurate, but confirmations require free energy calculations, which have been performed based on prediction results. The energy profiles confirmed the regio- and stereoselectivity of C1-(R)-C10'-(S) based on the stability of products and transition states. The energy difference between different energy profiles have further been cleared away by studying weak interactions between electron donor and acceptor. Results show that  $\pi$ - $\pi$  interactions play a crucial role in determining regio- and stereoselectivity. We suggest that the designing of regio- and stereoselective products with similar structures should take weak interactions into consideration. Proper design intermolecular interactions can result in reactions with great selectivity and can be very valuable in industrial production.