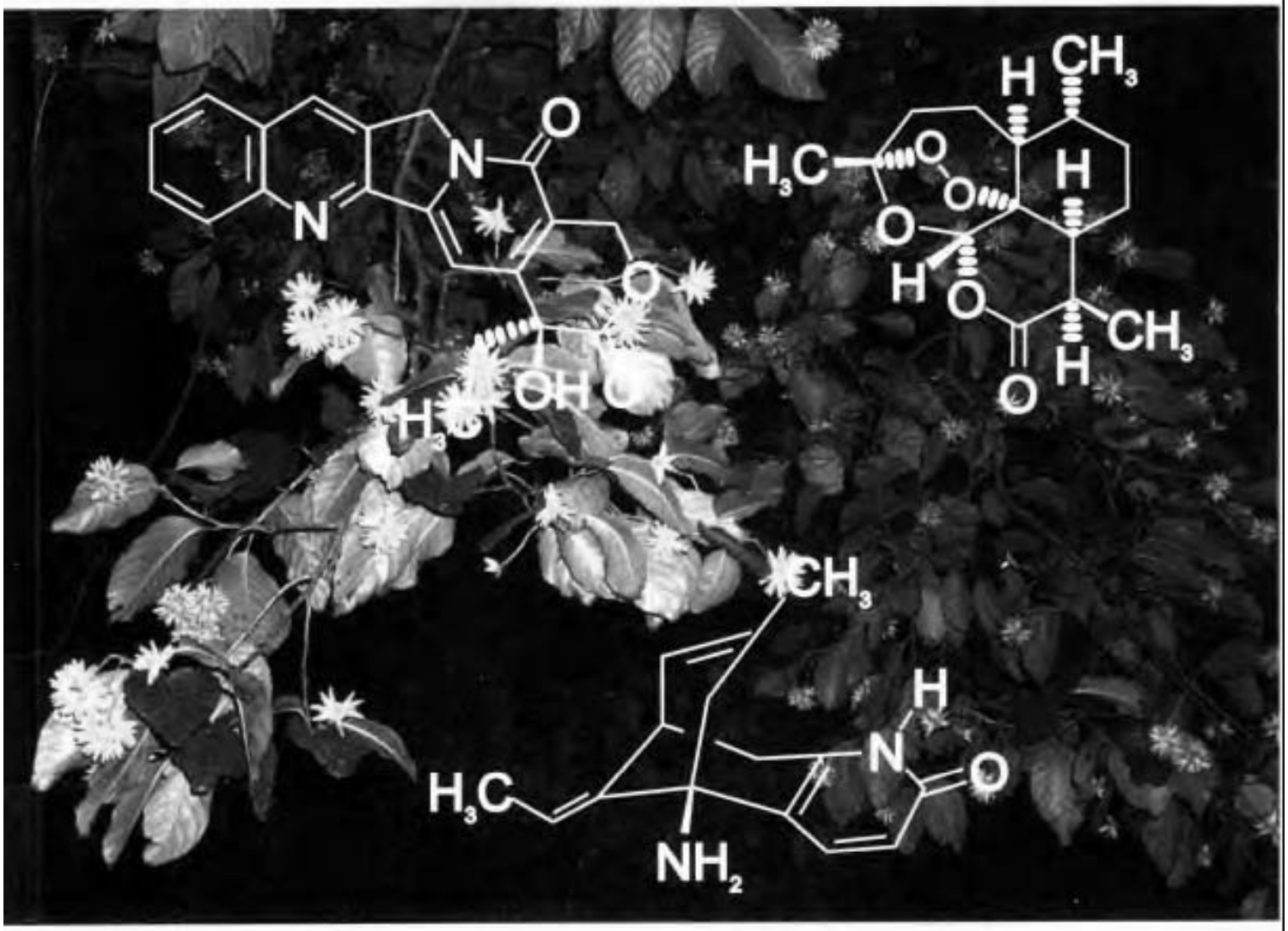
天然产物化学

（第二版）

徐任生 主编

叶 阳 赵维民 副主编



科学出版社
www.sciencep.com

(O-1872.0101)



徐任生，理学博士，教授。1931年生，江苏金坛人。毕业于前苏联大学及其研究生院，先后在中国科学院上海药物研究所、美国中药科学研究中心（Pharmagenesis）从事天然产物化学与中药现代化研究。主编《天然产物化学》、《黄酮体化合物鉴定手册》等六部专著，发表学术论文180余篇，曾获国家自然科学二等奖，中国科学院自然科学三等奖等。为国产药地高新、西地兰、10-羟基喜树碱及雷公藤内酯酮的研究与开发做出了重要贡献。曾兼任IUPAC药物化学组和UNESCO东南亚天然产物化学组中国代表，国家自然科学基金委员会有机化学组评审员，上海药学会副理事长及上海医科大学兼职教授等职，现为中国科学院上海药物研究所、IOCD（国际化学发展组织）和《中国天然产物》编委会的学术顾问，*Phytochemical Analysis*、*Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences* 和《天然产物研究与发展》等杂志编委。



叶阳，1965年生于河南洛阳，1992年于中国科学院上海药物研究所获博士学位，1994－1995年获德国洪堡基金支持在慕尼黑大学有机化学研究所从事博士后研究，1997－1998年在德国拜耳公司中央研究院做访问学者。现为中国科学院上海药物研究所研究员，博士生导师，天然药物化学研究室主任。主要从事植物及微生物来源的生物活性天然先导化合物的发现和结构修饰。



赵维民，1989年毕业于北京医科大学药学院，1995年于中国科学院上海药物研究所获理学博士学位，1995年赴瑞士Lausanne大学进行博士后研究，1999年和2001年分别在美国Illinois大学Chicago分校和法国国家科学研究中心（CNRS）天然产物化学研究所做访问学者，现为中国科学院上海药物研究所研究员，博士生导师。主要致力于从中草药及其他植物资源中寻找新的活性天然产物。

ISBN 7-03-012518-5

9 787030 125187 >

ISBN 7-03-012518-5
定 价：120.00 元

天然产物化学

（第二版）

徐任生　主编

叶　阳　赵维民　副主编

科学出版社

北京

内 容 简 介

本书纳入天然产物分离与化学结构研究（波谱应用）的基本理论与方法，扼要叙述各类主要天然产物的化学结构、特征、应用及其结构的近代研究方法及某些全合成与生物合成途径。内容包括植物与中草药的各类化学成分；海洋生物、昆虫激素和信息素，常见的天然产物成分分离方法与结构测定；立体化学，化学合成与生物合成及主要生物活性，并举例解析。同时，书中注意采纳我国科学家的研究成果，许多是作者的学术成果总结。

本书是一本具有中国特色的、较新颖的天然产物化学参考书，可供天然有机化学、药物化学、中草药化学、植物化学、有机化学、分析化学及植物学与生物学等相关专业的研究生、教师、科研人员及中西制药公司有关人员参考。

图书在版编目（CIP）数据

天然产物化学/徐任生主编．—2 版．—北京：科学出版社，2004
ISBN 7-03-012518-5

Ⅰ．天… Ⅱ．徐… Ⅲ．天然有机化合物 Ⅳ．O629

中国版本图书馆 CIP 数据核字（2003）第 117562 号

责任编辑：杨淑兰 黄 海 吴伶伶/责任校对：陈丽珠
责任印制：钱玉芬/封面设计：陈 敬

科学出版社 出版
北京东黄城根北街16号
邮政编码：100717
http://www.sciencep.com
源海印刷有限责任公司印刷
科学出版社发行 各地新华书店经销
*
1993 年 12 月第 一 版 开本：A4（890×1240）
2004 年 9 月第 二 版 印张：58
2004 年 9 月第三次印刷 字数：1906 000
印数：2 701—5 200
定价：120.00 元
（如有印装质量问题，我社负责调换〈环伟〉）

参加编写人员名单（按姓氏笔画排序）

孔德云　上海医药工业研究院
上海市北京西路 1320 号　200040

叶　阳　中国科学院上海生命科学分院药物研究所
上海浦东张江高科技园区祖冲之路 555 号　201203

朱大元　中国科学院上海生命科学分院药物研究所
上海浦东张江高科技园区祖冲之路 555 号　201203

杨益平　中国科学院上海生命科学分院药物研究所
上海浦东张江高科技园区祖冲之路 555 号　201203

吴厚铭　中国科学院上海有机化学研究所
上海市枫林路 354 号　200032

闵知大　中国药科大学
南京市中央路童家巷 24 号　210009

陆　阳　上海第二医科大学
上海市重庆南路 280 号　200025

陈仲良　中国科学院上海生命科学分院药物研究所
上海浦东张江高科技园区祖冲之路 555 号　201203

陈泽乃　上海第二医科大学
上海市重庆南路 280 号　200025

林文翰　北京大学药学院
北京市学院路 38 号　100083

易杨华　第二军医科大学药学院
上海市国和路 101 号　200433

金善炜　中国科学院上海有机化学研究所
上海市枫林路 354 号　200032

胡立宏　中国科学院上海生命科学分院药物研究所
上海浦东张江高科技园区祖冲之路 555 号　201203

胡昌奇　复旦大学医学院
上海市医学院路 138 号　200032

赵维民　中国科学院上海生命科学分院药物研究所
上海浦东张江高科技园区祖冲之路 555 号　201203

段文虎　中国科学院上海生命科学分院药物研究所
上海浦东张江高科技园区祖冲之路 555 号　201203

俞　飚　中国科学院上海有机化学研究所
上海市枫林路 354 号　200032

徐任生　中国科学院上海生命科学分院药物研究所
上海浦东张江高科技园区祖冲之路 555 号　201203

徐杰诚　中国科学院上海有机化学研究所
上海市枫林路 354 号　200032

序　言

天然产物化学是有机化学的一门重要分支学科，天然产物中微量成分的分离、结构的确定、复杂结构化合物的合成推动了方法、技术和理论的不断创新，由此不仅丰富了有机化学学科的内容，也带动了其他有关学科的发展。天然产物化学的研究对国民经济和人类健康也有不可忽视的作用，在医药、农业、工业等方面一直受到重视。以医药业为例，在全球已经开发上市的新药中，约 30% 属天然来源。在抗癌、抗感染药物中更为突出，约占 60%。

我国天然产物资源丰富，中草药应用历史悠久，是开展天然产物化学研究的有利因素。在老一辈有机化学家的开拓和推动下，天然产物化学方面的研究工作非常活跃。经过不到一个世纪的耕耘，不论在学术上还是在应用上都取得了显著成果，研究队伍也日益壮大。为适应天然产物化学研究在我国蓬勃开展的形势，徐任生教授主编了《天然产物化学》一书，参与写作的多是经验丰富的专家学者，主旨是根据国内外有关资料，结合自己的科研与教学经验，尽量收纳我国科学家自己的研究成果，使该书具有中国的特色。由于该书内容切合广大青年研究者和教学人员的需要，1993 年出版后深受读者欢迎，作为手头常备的参考书籍。

10 年来由于科学技术的飞速发展，《天然产物化学》中的原有内容已略显陈旧。徐教授应读者要求，不辞辛劳，广邀有关专业学者，尤其是近年来崛起的在相关领域造诣较深的中青年学者参与再版的撰写工作。再版的《天然产物化学》总体上保持原貌，但个别章节略有增删，并着重补充了近年来发展的新方法、新技术和新的研究成果。相信它的再版将为读者提供非常实用的参考资料。

我虽然已经脱离天然产物研究多年，但始终关注这方面的工作进展。该书作者多是我的故友新交。感谢他们在繁忙的科研和教学工作之余，耗费大量精力，为我国天然产物研究贡献这样一本内容丰富的佳作，也以被邀为该书作序而深感荣幸。

谢毓元

2003 年 9 月

编者的话

我国地域辽阔，植物、动物、微生物等天然资源十分丰富，中草药应用历史悠久，因而天然产物化学研究有着得天独厚的优势。天然产物已成为我国有机化学与药物化学研究的重要对象。许多高等院校与研究机构都设有天然药物化学、天然产物化学、中草药化学或植物化学研究室并招收研究生。我国天然产物化学的研究成果已愈来愈引起国际上的重视。1993 年，我们应科学出版社之邀编著出版了《天然产物化学》一书，受到读者的欢迎。由于出版数量的限制，未能满足读者的需要而被要求一再加印。随着科学技术的飞速发展，新资料、新信息、新的报道和资料的不断涌现，加上计算机的普及应用使我们有可能以较快的速度来编写内容更新、更丰富和更实用的第二版以适应当今读者与时代的需求，供研究生与年轻的教学和研究人员参考。天然产物化学内容十分广泛，我们没有打算收集所有资料，编写所有类别的天然产物，只求能反映常见的、主要的各类化合物的分离、结构与特征。天然产物结构的近代研究方法包括立体化学、化学反应、各种波谱方法、全合成与生物合成及主要生物活性，并举例解析，使理论与实际相结合，同时内容力求简洁、扼要，能提供一些有关的基本资料与原始文献，并尽可能采纳我国科学家的研究成果与实用性的研究实例，使本书具有中国特色，让读者能掌握天然产物化学研究的基本要领。本书各章节编写人员均为对该章节内容熟悉、掌握资料较多的专家与学者，书中许多内容是作者的学术经验总结。为便于作者独立发挥，故本书在表达方式上未强求全书统一，未做过多删节，各章可自成体系，因此难免有些地方重复，但各作者侧重的方面不同，资料来源不完全一样，所以即便有重复之处仍具有不同的参考价值。

本书承中国科学院院士谢毓元先生写序言，周维善院士关心和支持，中国科学院上海药物研究所所长陈凯先院士及其他领导的支持，以及张海澜教授的协助，田佳协助编排目录、索引及其他许多工作，在此一并致谢。

由于编写时间匆促，不少地方可能仍存在错误，望读者给予批评、指正，以便今后有机会时修改与补充。

徐任生　叶　阳　赵维民

2003 年 9 月

第一版前言

有机化学起源于研究天然产物，天然产物化学研究不仅对建立有机化学学科起了奠基石的作用，而且对发展该学科仍在不断地做出巨大的贡献。以后的煤焦油、合成有机化学、理论有机化学等研究陆续兴起和发展，有机化学范围与内容乃日渐扩充，分支学科遂相继形成，其中天然产物化学已是公认的一个分支学科。

天然产物化学虽常被认为是理论研究，但推动本学科发展的主要动力应该仍是实际应用。如人们设想能否以人工合成自古以来应用的天然染料如靛蓝、花青素，天然药物如喹啉、吗啡，以及以后发现的甾体激素、维生素等，以满足人类的大量需要。当然要合成这些物质，首先就要阐明它们的化学结构，20 世纪上半叶即集中于此一项目研究。在此期间很多出色的科学家付出艰巨努力，主要利用经典的化学方法，终于解决了不少结构复杂的天然产物结构。50 年代前后合成工作蓬勃发展，不久，结构已知的、特别是有实用价值的天然产物得以合成成功，甚至从结构改造出发而合成了有用的代替品。应该说天然产物化学研究主要仍是提取与结构阐明两大范围。有机全合成工作实际上乃属于和有机合成化学家所共有的研究领域，而结构改造多为药物化学家与应用化学家的领域了。随着时间的推移，提取工作的探索从高含量成分逐步发展到微量成分，结构的阐明也是从简单到复杂。为了解决这些难度逐步提高的问题必然要求发现新方法、新技术和新理论，而所获得的新成就又反过来丰富了有机化学学科，也丰富了物理学科和技术学科。

生物化学建立后，将大分子天然产物如蛋白质、多肽、核酸、多糖等纳入其学科范围。目前所研究的天然产物一般包括相对分子质量一千以下或一千左右的化合物。但事实上所谓大分子也多系小分子重复叠加化合而成。所以，凡来源于生物体的分子均应属近年来出现的生命科学范围。可以说天然产物化学研究不但对医用、日用等方面有贡献，而且其更远大的作用还是对生物的生命起源和生理活动作用的解释做出应有的贡献。它的前途是不可限量的。

我国有机化学研究的创立与发展过程也与天然产物化学学科有密切的关系。20 世纪 20 年代后期，国内方有现代有机化学研究，从西方留学归来的少数有机化学工作者多半首先投入天然有机化学研究，特别是中草药化学成分的提取与鉴定。原因或许是中草药原料国内易于获得，同时所需化学试剂种类简单之故。虽经解放前 20 余年的政局混乱，外侮频仍，而这一领域的研究尚断续进行着，解放后才逐渐发展扩大。工作方法仍从提取开始，不久结构研究也相继进行。由于提倡理论联系实际同时重视了与生物作用配合，使此项研究获得前进的更大动力。几十年来成果在增加，队伍在壮大，看来它已成为我国有机化学研究中的一个传统领域。进一步的要求是使我们的工作达到国际上同类工作的水平，并保持我国自己的特色，为我国的丰富资源获得经济效益，并为国际上共同关心的生命科学做出应有的贡献。

要实现这些要求，首先要在人力的数量与质量上加以提高，从理论和实验方面给予培养的机会，而提供必要的参考书则是培养的必要手段之一。当然现在国际上已有不少文献资料可以利用，但以中文写作者甚少。徐任生教授主编的这本《天然产物化学》在安排写作方面有不同于现有国外同类书籍之处。这是一本理论与实验受到同等重视的参考书，其目的在于使初学和初次投入本领域研究的工作者，不但能初窥本领域的理论知识面貌，同时还能开始进行一定的实验室工作。本书第一章对提取工作加以择要介绍，其目的或在于此。

本书对提取、结构研究叙述较丰富。分别由本领域有多年研究经验的科学工作者执笔，并多处利用我国自己的研究工作为例，有些是作者们本身经历的工作，故具有可靠性和实用性。从写作内容也可看出我国天然有机化学研究的传统是以本国生物资源为原料，有一定目的性地从提取某种生物的化学成分开始，主要寻找有生理作用的物质，也兼寻找某一化学结构类型的新化合物。这种工作路线的前途将是宽广的。近年来分离提纯与结构鉴定工作的速度均在增加。当然从大量的提取中获得已知化合物的机会也要多于未

知化合物。这些已知物，特别是含量较高的，可以对它们作生物作用的筛选，也可作其他有效化合物的半合成原料。例如，延胡索乙素（四氢巴马汀）是已知物，经过药理研究，已成为有经济效益的临床用药，很多甾体皂苷能作为合成有用的甾体激素的原料。虽然在国外多视此类工作方式为技术性工作，但我国工作者常乐此不疲，实系一种好的现象，愿此一传统能继续发扬光大，而本书的出版将有助于推动本项工作的顺利进行。

本书还涉及海洋天然产物、生物合成、生物转化等方面的最新进展。这些都是推动天然产物化学的理论与实践的发展所必须探索的。本领域的研究在国内外均在继续发展，相信本书在不久的将来还会经过修改补充而再版。

本书作者大都是与我相处或共同工作二三十年的同志，能为我国天然产物化学研究贡献这样一本参考书使我感到十分欣慰，同时为能写此短文作为本书的前言而深感荣幸。

高怡生

1988 年 2 月

缩 写 表

Ac	acetyl	乙酰基
Am	amyl	戊基
Aq	aqueous	水
Ar	aryl	芳基
Bu	butyl	丁基
Bz	benzoyl	苄基
Chf	chloroform	氯仿
DCC	dicyclohexylcarbodiimide	二环已基碳二亚胺
DDQ	2，3-dichloro-5，6-dicyano-1，4-benzoquinone	2，3-二氯-5，6-二氰-1，4-苯醌
Dil	dilute	烯
Diox	dioxane	二氧六环
DMF	dimethylformamide	二甲替甲酰胺
DMSO	dimethylsulfoxide	二甲亚砜
Et	ethyl	乙基
LAH	lithium aluminium hydride	氢化铝锂
Liq	liquide	液体
Me	methyl	甲基
NBS	*N*-bromosuccinimide	*N*-溴代丁二亚胺
PCC	pyridine chlorochromate	氯铬酸吡啶
Ph	phenyl	苯基
Pr	propyl	丙基
PVP	polyvinylpyrrolidone	聚乙酰吡咯烷酮
Py	pyridine	吡啶
RT	room temperature	室温
T	tertiary	叔基
TFA	trifluoroacetic acid	三氟乙酸
THF	tetrahydrofuran	四氢呋喃
Tol	toluene	甲苯
Ts	*p*-toluenesulfone	对甲苯磺基
PTS	*p*-toluenesulfonic acid	对甲苯磺酸
△	reflux or heat	回流或加热
ara	arabinose	阿拉伯糖
gal	galactose	乳糖
glu	glucose	葡萄糖
man	manose	甘露糖
rha	rhamnose	鼠李糖
xyl	xylose	木糖

目　录

序言
编者的话
第一版前言
缩写表
第一章　概论 …… 徐任生（3）
第二章　天然产物的提取分离 …… 赵维民（3）
第一节　天然产物的提取 ……（3）
一、传统溶剂提取法 ……（3）
二、水蒸气蒸馏法 ……（4）
三、超临界流体提取法 ……（4）
四、固相提取法 ……（4）
第二节　天然产物的分离 ……（4）
一、经典分离方法 ……（4）
二、色谱分离方法 ……（7）
三、结语 ……（23）
参考文献 ……（23）
第三章　结构研究中常用的波谱技术 …… 吴厚铭（25）
第一节　核磁共振谱 ……（25）
一、引言 ……（25）
二、核磁共振结构解析实用基础 ……（25）
三、2D-NMR 波谱技术 ……（57）
四、新颖天然产物结构的系统测定法——从头开始的结构解析 ……（67）
五、天然产物结构系统解析法的应用实例 ……（77）
六、结语 ……（98）
第二节　质谱 ……（99）
一、EI-MS 的碎片类型 ……（100）
二、场解吸质谱 ……（102）
三、快原子轰击法 ……（102）
四、化学电离质谱 ……（102）
第三节　红外光谱 ……（103）
一、基团振动 ……（103）
二、特征基团的频率 ……（104）
第四节　紫外光谱 ……（108）
一、Beer 定律 ……（108）
二、溶剂 ……（108）
三、各类发色团的吸收值 ……（109）
第五节　圆二色谱 ……（110）
一、绝对构型的推定 ……（110）
二、酮的八区律 ……（111）
三、CD 激子手性法 ……（111）
参考文献 ……（113）

第四章 生物碱 …… 叶 阳，徐任生（115）
第一节 概述 ……（115）
第二节 生物碱的性质与鉴别 ……（116）
第三节 生物碱的提取与分离 ……（117）
第四节 生物碱的分类 ……（118）
第五节 异喹啉类生物碱 ……（119）
一、结构特征与谱学特征 ……（119）
二、阿片生物碱 ……（121）
三、防己碱与清风藤碱 ……（124）
四、大叶唐松草碱 ……（125）
第六节 喹啉类生物碱 ……（127）
一、金鸡纳生物碱 ……（127）
二、喜树碱及其类似物 ……（131）
第七节 喹唑类生物碱 ……（132）
第八节 吡咯烷类生物碱 ……（135）
一、分类 ……（135）
二、吲哚里西定类生物碱 ……（136）
三、萆薢烷类衍生物 ……（138）
四、百部生物碱类 ……（143）
第九节 吲哚生物碱 ……（151）
一、蛇根草生物碱类 ……（152）
二、长春花生物碱类 ……（156）
第十节 吡啶酮类生物碱——石杉碱 ……（160）
参考文献 ……（163）
第五章 单萜 …… 杨益平（166）
第一节 单萜化合物的提取与分离 ……（166）
一、挥发油的一般性质 ……（166）
二、单萜化合物的提取 ……（167）
三、挥发油成分的分离纯化方法 ……（168）
第二节 单萜化合物的分类与分析方法 ……（169）
一、单萜化合物的基本类型 ……（169）
二、精油的成分分析与含量测定 ……（170）
三、单萜化合物的结构鉴定 ……（171）
第三节 无环单萜化合物 ……（173）
第四节 单环单萜化合物 ……（175）
一、薄荷醇 ……（175）
二、(±)-薄荷醇的拆分 ……（176）
三、(-)-薄荷醇的合成 ……（177）
四、(±)-薄荷醇的类似物 ……（177）
五、桉树脑及其类似物 ……（179）
第五节 双环单萜化合物 ……（180）
一、蒎烷型化合物 ……（180）
二、樟烷及异樟烷型衍生物 ……（181）
三、莰烷型衍生物 ……（182）
四、蒈烷型衍生物 ……（182）
五、苎烷型衍生物 ……（183）
六、环烯醚萜及其苷类 ……（183）
第六节 不规则单萜化合物 ……（190）

一、除虫菊酯类化合物 …… (190)
二、斑蝥素 …… (192)
参考文献 …… (193)
第六章　倍半萜类 …… 陈仲良 (196)
第一节　倍半萜的化学分类及结构关系 …… (196)
第二节　倍半萜类的生理作用 …… (203)
一、植物生长发育的控制物质 …… (203)
二、昆虫保幼激素 …… (204)
三、昆虫性引诱剂及昆虫驱避物质 …… (204)
四、抗菌素类和细菌代谢产物 …… (204)
五、驱虫杀虫作用 …… (206)
六、神经系统作用 …… (206)
第三节　一般性质与提取分离 …… (208)
第四节　倍半萜的立体化学——十元环的构象分析 …… (213)
第五节　倍半萜的化学反应 …… (214)
一、硒脱氢 …… (214)
二、氢化 …… (215)
三、水解与内酯再环合 …… (216)
四、重排转化 …… (216)
五、Cope 重排 …… (218)
六、牻牛儿二烯系统的跨环重排 …… (219)
第六节　倍半萜的光谱解析 …… (221)
一、紫外和红外光谱 …… (221)
二、倍半萜类的质谱 …… (221)
三、倍半萜类的^{1}H-NMR …… (222)
四、倍半萜类的^{13}C-NMR …… (228)
第七节　结构研究实例 …… (230)
一、jaschkeanadiol 的结构 …… (230)
二、莽草素 anisatine 的结构 …… (231)
三、*Helianthus ciliaris* 中倍半萜的结构 …… (234)
四、spathulenol 的结构 …… (236)
第八节　青蒿素的化学药理和临床 …… (240)
第九节　天然倍半萜过氧化合物 …… (258)
第十节　聚合倍半萜和结合倍半萜 …… (261)
参考文献 …… (267)
第七章　昆虫激素与信息素 …… 杨益平 (270)
第一节　引言 …… (270)
第二节　昆虫变态激素 …… (272)
一、昆虫蜕皮激素 …… (272)
二、植物蜕皮激素 …… (273)
三、抗蜕皮激素 …… (283)
四、蜕皮激素的生物合成、代谢及转化 …… (284)
五、昆虫变态激素的提取分离和结构鉴定 …… (285)
第三节　保幼激素 …… (288)
一、保幼激素的分离和结构 …… (288)
二、保幼激素的合成与绝对构型确定 …… (289)
三、抗保幼激素 …… (290)
四、保幼激素的生物合成 …… (290)

第四节　昆虫信息素 …… (291)
一、分离与结构测定 …… (291)
二、昆虫信息素光学纯度测定 …… (295)
三、信息素立体化学与生物活性的关系 …… (295)
四、昆虫信息素的合成 …… (296)
五、昆虫信息素的应用与研究展望 …… (301)
参考文献 …… (302)
第八章　二萜类化合物 …… 闵知大 (305)
第一节　紫杉烷二萜 …… (305)
一、紫杉烷二萜分类和结构 …… (306)
二、紫杉烷的骨架 …… (308)
三、紫杉烷的生源途径 …… (310)
四、紫杉醇的生理活性 …… (312)
五、紫杉醇的构效关系 …… (312)
六、紫杉醇的提取和分离 …… (313)
七、紫杉醇的半合成 …… (313)
八、Taxotere 的半合成路线 …… (315)
九、紫杉醇的全合成 …… (316)
十、非紫杉烷二萜 …… (317)
十一、紫杉醇的光谱 …… (317)
十二、研究实例 …… (319)
第二节　松香烷二萜 …… (322)
一、雷公藤二萜 …… (322)
二、大戟属等植物中的松香烷二萜 …… (328)
三、丹参二萜 …… (330)
四、研究实例 …… (333)
第三节　半日花烷二萜 …… (334)
一、穿心莲内酯二萜 …… (334)
二、鞘蕊花素二萜 …… (342)
第四节　克罗烷二萜 …… (345)
一、克罗烷二萜的结构 …… (345)
二、nor-neo-克罗烷二萜的构型 …… (347)
三、克罗烷二萜的昆虫拒食活性 …… (349)
第五节　贝壳杉烷二萜 …… (351)
一、ent-贝壳杉烷二萜的结构 …… (351)
二、冬凌草甲素和甜菊苷的分离和生理活性 …… (353)
三、ent-贝壳杉烷的化学反应 …… (356)
四、ent-贝壳杉烷的相对构型 …… (357)
五、冬凌草甲素 A 的绝对构型 …… (358)
六、冬凌草甲素的半合成 …… (359)
七、甜菊苷的结构修饰 …… (359)
八、ent-贝壳杉烷二萜的光谱 …… (360)
第六节　大环二萜 …… (361)
一、巴豆烷二萜 …… (362)
二、巨大戟烷二萜 …… (364)
三、瑞香烷二萜 …… (366)
四、续随子烷二萜 …… (367)
五、假白榄烷二萜 …… (369)

六、西松烷二萜 …… (370)
七、曼西醇二萜 …… (370)
八、研究实例 …… (370)
参考文献 …… (374)
第九章　银杏萜内酯 …… 胡立宏，陈仲良 (378)
第一节　引言 …… (378)
第二节　银杏萜内酯的化学结构与提取分离 …… (378)
一、化学结构 …… (378)
二、提取和分离 …… (379)
第三节　GBE 中银杏内酯的定性和定量分析 …… (380)
一、薄层层析 …… (381)
二、萜类内酯的含量测定 …… (381)
第四节　银杏萜内酯类的波谱分析 …… (384)
一、银杏萜内酯类的^{1}H-NMR 谱 …… (385)
二、银杏萜内酯类的^{13}C-NMR 谱 …… (386)
三、银杏萜内酯类的二维谱 …… (388)
第五节　银杏萜内酯的化学反应 …… (391)
一、银杏内酯的全合成研究 …… (391)
二、银杏内酯的生物合成研究 …… (395)
三、天然银杏内酯的相互沟通反应 …… (395)
四、银杏内酯的类似物合成及其拮抗 PAF 活性的构效关系研究 …… (397)
第六节　银杏萜内酯的药理、临床研究 …… (407)
一、银杏内酯的药理研究 …… (407)
二、银杏内酯的临床研究 …… (407)
三、白果内酯的药理研究 …… (408)
参考文献 …… (408)
第十章　皂苷 …… 赵维民 (410)
第一节　概述 …… (410)
第二节　皂苷的提取与分离 …… (410)
一、大孔吸附树脂色谱 …… (411)
二、硅胶色谱 …… (411)
三、反相色谱 …… (411)
四、液液分配色谱 …… (412)
第三节　皂苷结构的研究方法 …… (412)
一、苷键的裂解 …… (413)
二、色谱法在皂苷结构研究中的应用 …… (415)
三、波谱法在皂苷结构研究中的应用 …… (416)
第四节　皂苷的生物活性 …… (418)
一、抗肿瘤和细胞毒作用 …… (418)
二、免疫调节作用 …… (419)
三、抗微生物作用 …… (420)
四、心血管活性 …… (420)
五、抗炎、抗渗出、抗水肿作用 …… (420)
六、其他作用 …… (420)
第五节　三萜皂苷 …… (421)
一、三萜皂苷元简介 …… (421)
二、三萜的主要结构类型 …… (422)
三、三萜的波谱解析 …… (427)

四、研究实例 …… (428)
第六节 甾体皂苷 …… (437)
一、甾体皂苷元 …… (437)
二、甾体皂苷元的波谱解析 …… (440)
三、螺旋甾烷类皂苷 …… (441)
四、呋喃甾烷类皂苷 …… (442)
五、呋喃螺旋甾烷类皂苷 …… (444)
参考文献 …… (445)
第十一章 氨基酸、肽、蛋白质 …… 胡昌奇，金善炜，徐杰诚 (448)
第一节 氨基酸 …… (448)
一、结构与分类 …… (448)
二、氨基酸的物理性质 …… (450)
三、氨基酸的化学性质 …… (450)
四、氨基酸的分离分析 …… (452)
第二节 肽 …… (460)
一、肽和蛋白质的结构和特性 …… (461)
二、天然的生物活性多肽 …… (462)
第三节 蛋白质 …… (467)
一、分离纯化 …… (468)
二、纯度的检定 …… (470)
三、蛋白质的物理化学性质 …… (474)
四、蛋白质一级结构的测定 …… (475)
参考文献 …… (487)
第十二章 碳水化合物 …… 俞飚 (489)
第一节 概述 …… (489)
第二节 碳水化合物的结构 …… (490)
一、单糖的化学结构 …… (490)
二、单糖的构型 …… (492)
三、糖的构象 …… (494)
四、糖的命名和缩写 …… (496)
第三节 天然存在的碳水化合物 …… (498)
一、天然存在的单糖 …… (498)
二、天然存在的寡糖 …… (499)
三、天然存在的多糖 …… (502)
第四节 碳水化合物的结构研究 …… (503)
一、碳水化合物的高效液相色谱 …… (504)
二、碳水化合物的核磁共振分析 …… (504)
三、碳水化合物的质谱分析 …… (507)
四、多糖结构分析实例 …… (508)
第五节 碳水化合物的化学合成 …… (510)
一、糖苷键的化学合成 …… (510)
二、糖苷键的酶促合成 …… (517)
三、合成寡糖和糖缀合物的新策略 …… (518)
四、合成实例 …… (522)
参考文献 …… (524)
第十三章 黄酮类化合物 …… 孔德云 (526)
第一节 概述 …… (526)
一、黄酮类化合物的结构类型和分类 …… (526)

二、黄酮类化合物的理化性质 ……（528）
三、黄酮类化合物在植物中的分布 ……（528）
第二节　黄酮类化合物的提取分离 ……（535）
一、新的提取分离技术 ……（536）
二、提取分离实例 ……（538）
第三节　黄酮类化合物的鉴别和结构研究 ……（540）
一、鉴别 ……（540）
二、结构研究 ……（541）
第四节　黄酮类化合物的药理研究 ……（562）
一、心血管系统活性 ……（562）
二、抗菌及抗病毒活性 ……（562）
三、抗肿瘤活性 ……（562）
四、抗氧化自由基活性 ……（563）
五、抗炎、镇痛活性 ……（563）
六、保肝活性 ……（563）
第五节　黄酮类化合物的含量测定及其制剂 ……（564）
一、黄酮类化合物的含量测定 ……（564）
二、黄酮类化合物的制剂 ……（566）
第六节　现代生物技术在黄酮类化合物研究中的应用 ……（567）
一、植物细胞培养技术的应用 ……（567）
二、中药基因组计划 ……（568）
第七节　因特网在黄酮类化合物研究中的应用 ……（569）
一、文献查阅网站 ……（569）
二、中药数据库 ……（569）
三、大学及科研院所网址 ……（570）
四、组织机构网址 ……（570）
五、中药信息网 ……（571）
参考文献 ……（571）
第十四章　蒽醌类化合物 ……陆阳（573）
第一节　分布 ……（573）
第二节　结构类型 ……（573）
一、蒽醌衍生物 ……（573）
二、蒽环酮类抗菌素 ……（577）
第三节　理化性质 ……（578）
一、物理性质 ……（578）
二、颜色反应 ……（578）
三、酸性 ……（578）
第四节　提取和分离 ……（579）
一、提取 ……（579）
二、分离 ……（579）
第五节　波谱分析 ……（580）
一、紫外和可见吸收光谱 ……（580）
二、红外光谱 ……（581）
三、质谱 ……（581）
四、核磁共振谱 ……（581）
第六节　研究实例 ……（582）
一、毛线柱苣苔中的蒽醌 ……（582）
二、河套大黄中的蒽醌 ……（584）

三、*Isoplexis isabelliana* 细胞培养液中的蒽醌 …… (585)
四、*Morinda elliptica* 中的蒽醌 …… (585)
第七节 生物活性 …… (586)
一、泻下作用 …… (586)
二、抗菌、抗炎作用 …… (586)
三、抗氧化作用 …… (587)
四、抗肿瘤作用 …… (587)
五、酪氨酸蛋白激酶抑制作用 …… (587)
参考文献 …… (587)
第十五章 香豆素类化合物 …… 陈泽乃 (589)
第一节 概述 …… (589)
第二节 结构类型 …… (590)
一、简单香豆素类 …… (590)
二、呋喃香豆素类 …… (591)
三、吡喃香豆素类 …… (592)
四、其他香豆素类 …… (593)
第三节 理化性质 …… (595)
一、荧光 …… (595)
二、与碱反应 …… (595)
三、与酸反应 …… (596)
第四节 提取和分离 …… (596)
一、提取 …… (596)
二、分离和纯化 …… (597)
第五节 波谱鉴定 …… (598)
一、紫外光谱 …… (598)
二、红外光谱 …… (599)
三、核磁共振谱 …… (600)
四、质谱 …… (604)
第六节 研究实例 …… (605)
一、云南羌活中新的补骨脂内酯单糖苷 …… (605)
二、瑞香狼毒的新双香豆素 …… (606)
第七节 化学合成 …… (607)
一、简单香豆素的合成 …… (607)
二、呋喃香豆素类的合成 …… (607)
三、吡喃香豆素类的合成 …… (608)
四、其他香豆素的合成 …… (608)
第八节 生理活性 …… (608)
一、抗菌作用 …… (608)
二、肝脏毒性 …… (608)
三、光敏作用 …… (609)
四、抗凝血作用 …… (609)
五、扩冠作用 …… (609)
六、抗 HIV 作用 …… (609)
七、*i*-NOS 抑制活性 …… (609)
八、雌激素样活性 …… (609)
参考文献 …… (609)
第十六章 木脂体类化合物 …… 胡昌奇 (611)
第一节 概述 …… (611)

一、木脂体类化合物的命名 ……（611）
二、木脂体的生物合成 ……（613）
三、木脂体的分离与鉴定 ……（615）
第二节　木脂体的结构类型及其性质 ……（617）
一、二芳基丁烷类 ……（617）
二、二芳基丁内酯类 ……（620）
三、芳基萘类 ……（624）
四、四氢呋喃类 ……（628）
五、双四氢呋喃类 ……（631）
六、联苯环辛烯类 ……（636）
七、苯并呋喃类 ……（638）
八、双环辛烷类 ……（640）
九、苯并二氧六环类 ……（641）
十、联苯类 ……（641）
十一、低聚木脂体类 ……（642）
十二、其他类 ……（644）
第三节　木脂体的生物活性 ……（645）
一、抗肿瘤活性 ……（645）
二、抗病毒活性 ……（646）
三、对心血管系统的作用 ……（647）
四、保肝作用 ……（647）
五、其他作用 ……（647）
参考文献 ……（648）
第十七章　碳环芳香族酸酚性化合物 …… 陈仲良（651）
第一节　结构类型 ……（651）
一、苯及苯酚类衍生物 ……（651）
二、苯环二元酚类 ……（652）
三、间苯三酚类 ……（653）
四、萘环衍生物 ……（653）
五、连苯三酚类 ……（654）
六、二苯烯类及其有关化合物 ……（655）
七、蒽菲类衍生物 ……（655）
八、地衣酚类 ……（655）
九、大麻酚类 ……（656）
十、七元环类 ……（656）
十一、其他复杂类型 ……（657）
第二节　生理作用概述 ……（658）
第三节　结构测定举例 ……（658）
一、一枝黄花中的苯酚型化合物 ……（659）
二、石胡荽中的麝香草酚类化合物 ……（660）
三、苦苏和仙鹤草中的多聚间苯三酚类 ……（661）
四、鳞毛蕨属植物多聚间苯三酚类化合物 ……（664）
五、蚊麻酮类 ……（666）
六、rhodomyrtoxin 与 ϕ-rhodomyrtoxin ……（667）
七、松萝酸类 ……（667）
八、马兜铃酸及其衍生物 ……（669）
九、juncusol ……（673）
十、phenalenone 类 ……（673）
十一、二苯乙烯类 ……（674）

十二、苯丙素类酚酸化合物 …… (677)
参考文献 …… (680)
第十八章 强心苷类化合物 …… 徐任生 (681)
第一节 概述 …… (681)
第二节 强心苷的性质 …… (682)
第三节 强心苷的检测 …… (682)
第四节 强心苷的提取与分离 …… (683)
一、原生苷的提取 …… (683)
二、次生苷的提取 …… (683)
三、强心苷的分离和纯化 …… (684)
第五节 强心苷的结构 …… (684)
一、强心苷的糖原 …… (684)
二、强心苷的苷元 …… (685)
第六节 强心苷结构的波谱 …… (687)
一、紫外光谱 …… (687)
二、红外光谱 …… (687)
三、核磁共振谱 …… (688)
第七节 毛花洋地黄毒苷 …… (690)
一、西地兰的提取 …… (691)
二、地高辛的提取 …… (691)
第八节 羊角拗强心苷 …… (692)
第九节 杠柳苷 …… (693)
第十节 黄花夹竹桃苷 …… (694)
第十一节 万年青 …… (695)
第十二节 蟾酥毒 …… (695)
参考文献 …… (696)
第十九章 其他生物活性天然化合物 …… 徐任生 (697)
第一节 含硫化合物 …… (697)
一、蒜辣素与二烯丙基三硫 …… (697)
二、大葱与洋葱中的活性化合物 …… (699)
三、萝菜素 …… (699)
四、其他含硫天然化合物 …… (700)
第二节 含氰化合物 …… (701)
一、苦杏仁苷 …… (701)
二、垂盆草苷与异垂盆草苷 …… (701)
第三节 薏仁酯 …… (703)
第四节 白藜芦醇 …… (704)
第五节 麝香酮 …… (705)
第六节 番茄红素及四萜复烯类天然色素 …… (707)
参考文献 …… (708)
第二十章 海洋天然产物 …… 易杨华 (710)
第一节 萜类化合物 …… (712)
一、单萜类 …… (712)
二、倍半萜和二萜 …… (716)
第二节 甾体化合物 …… (720)
第三节 草苔虫抗癌活性成分 …… (723)
第四节 海绵活性天然产物 …… (723)

一、炔类化合物 ……（723）
二、甾体类化合物 ……（724）
三、生物碱类 ……（725）
四、萜类 ……（726）
五、肽类化合物 ……（728）
六、大环内酯类 ……（728）
七、其他类型的化合物 ……（729）
八、研究实例：棕色扁海绵中具抗癌活性的环肽化合物的提取分离与结构测定 ……（730）
第五节　海参皂苷 ……（733）
一、形态 ……（733）
二、种类与分布 ……（733）
三、化学结构 ……（733）
四、提取分离方法 ……（735）
五、结构测定 ……（736）
六、生物活性 ……（739）
七、研究实例 ……（740）
参考文献 ……（750）
第二十一章　天然产物的结构修饰 …… 朱大元（754）
第一节　抗疟药——青蒿素 ……（754）
第二节　抗肝炎药——联苯双酯 ……（756）
第三节　抗老年痴呆症药——石杉碱甲 ……（758）
第四节　心血管药——常咯啉 ……（760）
第五节　抗肿瘤药 ……（762）
一、鬼臼毒素 ……（762）
二、喜树碱 ……（763）
三、长春新碱 ……（765）
四、紫杉醇 ……（766）
五、斑蝥素 ……（767）
六、靛玉红 ……（768）
第六节　免疫抑制剂 ……（769）
第七节　抗菌素——红霉素 ……（770）
第八节　甾体药物 ……（773）
第九节　计算机药物设计与结构修饰 ……（773）
参考文献 ……（774）
第二十二章　天然产物的化学合成 …… 段文虎（777）
第一节　生物碱 ……（778）
一、吗啡 ……（778）
二、马钱子碱 ……（778）
三、喜树碱 ……（779）
四、利血平 ……（781）
五、美登素 ……（783）
第二节　萜类 ……（785）
一、单萜 ……（785）
二、倍半萜 ……（786）
三、二萜 ……（787）
第三节　黄酮体 ……（789）
一、查尔酮类和双氢黄酮类的合成 ……（790）
二、黄酮类和黄酮醇类的合成 ……（791）

第四节 蒽醌类的合成 …… (792)
一、应用 Friedel-Crafts 反应 …… (792)
二、应用 Michael 加成 …… (793)
三、应用 Diels-Alder 反应 …… (794)
四、*N*，*N*-二乙基苯甲酰胺的邻位金属化 …… (794)
第五节 木脂体 …… (795)
一、鬼臼毒素 …… (795)
二、五味子素 …… (796)
第六节 大环内酯类抗生素的合成 …… (799)
一、夹竹桃内酯 …… (799)
二、fluvirucin B_1 …… (801)
三、macrolactin A …… (802)
第七节 甾体和前列腺素 …… (803)
第八节 环肽 …… (805)
一、片段连接和环化 …… (806)
二、一些重要环肽的合成途径 …… (810)
参考文献 …… (816)
第二十三章 天然化合物的生物合成 …… 林文翰 (819)
第一节 概述 …… (819)
第二节 海洋细菌中代谢产物的生物合成 …… (821)
第三节 真核细菌次生代谢产物的生物合成 …… (826)
第四节 甲藻次生代谢产物的生物合成途径 …… (830)
第五节 硅藻次生代谢产物的生物合成 …… (833)
第六节 共生物微生物次生代谢产物的生物合成 …… (834)
第七节 大型藻次生代谢产物的生物合成 …… (837)
第八节 褐藻次生代谢产物的生物合成 …… (838)
第九节 红藻次生代谢产物的生物合成 …… (840)
参考文献 …… (843)
附录 …… (845)
附录一 中文主题索引 …… (845)
附录二 英文主题索引 …… (862)
附录三 中文生物学名索引 …… (886)
附录四 拉丁文生物学名索引 …… (893)

第一章 概 论

天然产物化学是包括一切源自植物、动物、昆虫及微生物代谢产物的化学，如生物碱、黄酮体、萜类、配糖体、氨基酸、蛋白质、糖类；依功能分，有药物、甜味剂、色素等。新技术与信息技术的普及，各学科的相互渗透使天然产物化学已涉及许多生命现象，如药物作用过程中配体与受体的作用机理，药物在人体内的代谢产物，以及蛋白质、酶的化学，使它与以内源性物质为主要研究对象的生物化学出现了交叉。国际上一些著名天然产物化学家也正在向这一方向过渡，巴登、中西香尔等近年编著《天然产物化学综论》(*Comprehensive of Natural Products Chemistry*)，该书就是主要阐述酶、蛋白质、DNA、RNA、多糖等多种与生命有关物质的化学。

在药物研究方面，迄今临床应用的药物三分之一以上源自天然产物。它们直接来自天然产物或是以天然产物的活性成分为先导进一步发展的衍生物、类似物或全合成产物。高通量筛选系统(high throughput screening)、组合化学(combinatory chemistry)、计算机化学(computer chemistry)及为完成人体基因图谱而带动的基因药物研究与基因芯片筛选都推动着新药的研究，但这些都不能代替从天然产物中寻找新药。因为只有从天然产物中才可找到结构新颖、生物作用独特的生物活性成分以引导新药研究。众所熟悉的阿司匹林就是从植物中广泛存在的水杨酸衍生而成的乙酰水杨酸。局部麻醉药普鲁卡因(procaine)是根据植物可卡因(cocaine)的结构研究得到的。我们的祖先早在17世纪初就从乌头中发现结晶体，但对它的系统研究还是欧洲化学家从19世纪开始的。19世纪初，化学家对鸦片进行了研究，分离得止痛成分吗啡与止咳成分可待因等多种生物碱。以后又从南美洲治疗疟疾的植物金鸡纳中分离得到了抗疟成分奎宁，从而加速了许多植物药的相继发现，如副交感神经抑制剂阿托品(atropine)、抗胆碱药东莨菪碱(scopolamine)、解痉药莨菪碱(hyocyamine)、缩瞳药毛果芸香碱(pilocarpine)、拟胆碱药毒扁豆碱(physostigmine)、平喘药麻黄碱(ephedrine)、子宫收缩药麦角新碱(ergometrine)、治阿米巴痢疾药吐根碱(emetine)、驱虫药山道年(santonin)、强心药地高辛(digoxine)、去乙酰毛花苷(deslanoside)等。这些植物药的发现极大地丰富了天然产物化学，使它受到了高度的重视并促进了药物化学的发展。今天它们仍具有强大的生命力，多少年来一直沿用至今并得到发展。

20世纪50年代，治疗高血压药利血平(reserpine)与抗癌药长春新碱(vincristine)的发明又一次掀起天然物化学研究的热潮，从而敦促了抗癌新药紫杉醇(paclitaxel)、喜树碱(camptothecin)、竹叶乙苷(etoposide)及其类似物的问世。70年代，我国科学家从中药黄花蒿中发现抗疟新药青蒿素(artemisinin或qinghaosu)又引起了国际对中药研究的重视。

我国地域辽阔，各地气象差异悬殊，天然产物资源丰富，种类繁多，中医药引用历史悠久。中草药资源多达12 000多种，因而从事天然产物研究的条件得天独厚。它历来都是我国有机化学家研究的重要对象。早期留学归来的有机化学家，回国后的研究课题往往从中草药开始。到目前为止国际上常用的植物药如阿托品、麦角新碱、山道年、东莨菪碱、利血平、长春新碱、地戈辛、喜树碱、10-羟基喜树碱、紫杉醇等都先后由我国科学家利用国内的植物资源分离成功并投入生产，供应国内与国际市场。我国科学家也独自研制成一系列植物新药：除青蒿素及其衍生物蒿甲醚(artemether)、青蒿琥酯(artesunate)与二氢青蒿素(dihydroartemisinin)外，还有从千层塔(*Huperzia serrata*)中分离得到改善记忆缺损并可望治疗老年痴呆症(阿尔茨海默病，Alzheimer's disease，AD)的石杉碱甲(huperzine A)；从中药川芎中分离得到治疗缺血性脑血管疾病的川芎嗪(chuanxingzine或四甲基吡嗪tetramethylpyrazine)；从唐古特莨菪(*Scopolia tangutica*)中分离得到胆碱酯酶抑制剂山莨菪碱(anisodamine)与樟柳碱(anisodine)；从栝楼(即天花粉 *Trichosanthes kivilowii*)中分离得到引产药天花粉蛋白(trichosanthin)；从五味子(*Schisandra chinensis*)中分离得到抗肝炎药五味子素(schisandrine)并合成其衍生物联苯双酯(biphenyl-dimethyl-dicarboxylate)。其他还有从大蒜中分离得到的抗菌药大蒜新素(二烯丙基三硫)、鱼腥草中的鱼腥草素(癸酰乙醛)、三棵针及黄连中分离得到的黄连素，镇痛镇静药延胡索乙素等都已批量生产并成为国内常规用药。这些成绩展现了中药现代化的前景。1987年，

中药新药审批办法颁布后，又有一批新药批准上市，如一类新药的参一胶囊，即人参皂苷 R_{g3} 及二类新药由薏米仁油制成的康乃特注射液，以 β-榄香烯(β-elemene)为主的郁金香(*Curcuma wenyujin*)提取液制成的榄香烯乳剂等都是很好的癌症治疗药物或辅助药。它们的特点是有免疫促进作用，无不良反应，或与化疗药物合并用药有增效作用。然而上述某些新发明没有申请专利，忽略了知识产权的保护！

除发展药物外，天然产物化学还涉及工业和农业。例如，天然甜味剂：甜叶菊中的甜菊苷(stevioside)及甘草甜素(glycyrrhizin)；天然色素：栀子黄素(gardenin)、橘黄素(tangeretin)、紫草素(shikonin)等。天然农药除虫菊酯(pyrethrin)及其衍生物均已生产应用。然而，它们的分离、纯化、结构鉴定及生产、生产流程和产品的质量控制等都需要天然产物化学的知识和研究方法。

近年来，科学家们从天然物中陆续发现了不少营养辅助剂：绿茶中的没食子酰表没食子儿茶素(EGCG)、葡萄中的白藜芦醇(resveratrol)及大豆中的染料木黄酮(genestein)等有防癌治癌的辅助作用。这是天然产物化学的又一次新贡献。

计算机的应用将新技术与新仪器推向高精密度、准确性、微量化与自动化。天然产物的分离也从常规的溶剂分离、层析分离向高效自动化发展。目前高效液相色谱(HPLC)、离心分溶色谱(centrifugal partition chromatography，CPC)、超临界流体色谱(supercritical fluid extraction，SFE)已被广泛应用。用于结构分析的高效质谱(HRMS)、二维核磁共振谱(2D-NMR)及 X 射线衍射方法已日趋普及。同时分离与结构鉴定相结合的 LC-MS、LC-NMR 正在推广。这些都使天然产物的分离、纯化与结构研究逐渐常规化与自动化。以往需要数年才能完成的工作现在只用数天甚至数小时就可以解决。样品的用量已由毫克级进入微克级水平。例如，长期以来难于解释的下丘脑抑制因子(hipothalamie inhibitory factor，HIF)与 G 毒毛旋花苷(quabain)的区别点，现在已由中西香尔等用微克级样品以 ^{1}H-NMR 谱解决了。此微克级样品是由 Harvard 与 Bristol-Meyer Squibb 研究组用 10 年时间从 20kg 牛下丘脑中分到的 3μg HIF，Upjohn 研究组则从人血清中分得几微克 quabain，这两个化合物的分子式和 HPLC 的保留时间完全相同，但生理活性有差异。最后被证明为 HIF 在储藏期间与玻璃容器的管壁上的硼砂钠相结合生成 quabain-硼酸钠络合物，它是个四面体结合物称 quabain tetrahedral borate。此物用三氟乙酸处理则游离成三价硼化物 quabain trigonal borate。这种极其精确的研究，只有应用新技术才能得出结果。

学科间的相互渗透与协作是科学发展的动力之一。天然产物化学研究必须与生物、医学、农业等密切配合，才会有生命力；否则，天然产物化学家辛苦分得并鉴别的产物只能作为一个普通化合物的资料记载而已。如果它们由生物学家发现具有生物活性，特别是具有抗肿瘤，抗艾滋病(HIV)，治疗阿尔茨海默病等的作用，则此种化合物将具有极大的价值。即使它们的资源有限，还可以通过化学合成、组织培养、细胞培养或生物合成的多种途径进一步发展，使它们成为有应用价值的天然产物，服务于人类的健康。

当我们对天然产物历史进行回顾，对现状作归纳总结时，可以明显地看到天然药物的研究硕果累累，为人类健康、工农业做出很大贡献。但从丰富的植物、动物、微生物资源来看，以上所得仅是极小的一部分，也是中草药宝库中很小的一部分，可以进一步研究的题材很多。从中药中寻找天然活性物质可以说是几辈人都完成不了的事业，它是个挖掘不完的"金矿"。前景光明，而且是中国特有。只要我们持之以恒，坚持不懈努力必将会有重大发现，为人类科学发展做出巨大贡献。

(徐任生)

第二章　天然产物的提取分离

植物、动物和微生物不仅为人类提供了广泛的食物来源，也是人类获取药物和其他多种有价值产品的一个重要来源。抗肿瘤药紫杉醇及抗疟药青蒿素的发现使人们对天然产物化学的研究日益重视。目前，许多药物研究机构及制药公司建立了多种新的药物筛选模型，高效药物筛选系统获得广泛采用。同时，液-质联用(LC-MS)、液相色谱与核磁共振联用(LC-NMR)技术与上述高效生物活性筛选技术的结合为从天然资源中快速发现药物先导化合物提供了便利。天然产物的纯化是利用光谱技术确定新化合物结构、理化性质及生物活性的前提。然而，即使在分离技术不断发展的今天，天然产物的分离纯化仍是一项相对繁琐、耗时的工作。在一个有开发价值的天然产物被发现之后，寻找能有效地降低成本获得该物质的分离方法便成为关键。因此，天然产物的提取与分离在天然产物化学研究中占有重要地位。

在进行天然产物提取分离前，应重视所用原材料品种的鉴定及来源。现代计算机因特网的建立极大地方便了有关文献资料的查阅。了解前人从某一植物或同属植物中所获得的化学成分，对选择适当的提取分离方法，进行化合物的结构解析及判断该植物可能的生物活性成分会带来重要启示。

从一个粗提物中获得纯化合物通常需经过许多纯化步骤，有时，一些化合物产率很低或性质不稳定，因而，选择恰当的提取分离方法十分重要。以往研究植物中有效成分时，主要依靠经典的溶剂法来提取分离。这些纯化方法虽简便，但效率低，且对微量成分、性质相类似成分和不易结晶成分的分离往往存在困难。现代新的分离技术及色谱仪器的使用使分离效率大大提高。

在设计纯化方案时，通常是在初始阶段使用分离效能不高但具有大量处理样品能力的纯化手段，如选择性提取、沉淀过滤及简单的常压柱色谱分离等。合理地选择单一或混合溶剂进行提取是进行样品有效分离纯化的第一步。以低极性溶剂提取可得到亲脂性的组分，醇类溶剂则对极性与非极性物质都可溶出。若开始阶段采用极性大的溶剂提取，接着用溶剂萃取方法可将提取物按极性分成不同的部位。一些较新的方法，如超临界流体萃取、固相萃取等，则具有选择性高、快速、高效的优点。

植物成分的提取分离方法很多，本章仅从实用观点出发，对一些常用的及较新颖的提取分离技术做一简略介绍。读者可参考章末参考书籍以获得更多资料。

第一节　天然产物的提取

提取是进行植物化学成分研究的第一步。选择适当的提取方法不仅可以保证所需成分被提出，还可以尽量避免不需要的杂质的干扰，简化后续的分离工作。有时只经过一步提取，即可获得植物中的单体成分，因此，植物成分的提取与后续的分离工作密切相关。

一、传统溶剂提取法

实验室传统的溶剂提取法包括浸渍法、渗漉法、煎煮法、回流提取法及连续回流提取法等。

用浸渍法提取植物成分时，可采用极性依次增大的溶剂提取。如国外一些植物化学实验室依次采用二氯甲烷、甲醇及水在室温条件下对植物成分进行提取。

渗漉法是目前国内外普遍采用的方法，效率较浸渍法高，且可用以提取较大量的植物样品。根据需要可以采用单一溶剂进行渗漉，也可使用几种溶剂依次进行渗漉。浸渍法和渗漉法一般提取温度较低，提取物中所含杂质较少。

与上述两种方法相比，煎煮法、回流提取法及连续回流提取法在较高温度下对植物成分进行提取，提取效率更高，但杂质也相对较多。连续回流提取法还具有操作简单、节省溶剂的特点。在不了解植物所含成分稳定与否的时候，一般应避免使用高沸点溶剂的煎煮法和回流提取法，以防植物所含成分发生变化。

在可用的提取溶剂中，水的成本最低，且非常安全。一些商品化的天然产物，如小檗碱、芸香苷、甘草酸等在制备过程中采用水为提取溶剂。但用水提取，提取液中的杂质较多，如无机盐、蛋白质、糖和淀粉等，给进一步分离带来许多困难。植物中的大多数成分都可用有机溶剂来提取。有时遇到植物中所含的成分较为简单或某一成分含量较高时，可根据其极性大小或溶解性能，选择一种适当的溶剂把所需的成分提取出来，而杂质留在植物残渣里。例如，细辛中含有一种中性物质细辛素[(－)-asarinin]，用石油醚回流，提取液浓缩即析出细辛素结晶，方法简单，产量高，被石油醚一起提出的挥发油则留在母液中。又如，将橘络粗粉置于索氏提取器中，用甲醇或乙醇回流提取，即析出橙皮苷结晶。

乙醇是最常用的有机溶剂，具有低毒、价廉、沸点适中、便于回收利用等特点，且对植物细胞的穿透能力强，除了蛋白质、黏液质、果胶、淀粉和部分多糖等以外，大多数有机化合物都能在乙醇中溶解。

二、水蒸气蒸馏法

水蒸气蒸馏法适用于提取能随水蒸气蒸馏而不被破坏的植物成分。这些化合物与水不相混溶或仅微溶，且在约 100 ℃时有一定的蒸汽压。当水蒸气加热沸腾时，能将该物质一并随水蒸气带出。譬如，植物中的挥发油，某些小分子生物碱如麻黄碱、烟碱、槟榔碱等，以及某些小分子的酸性物质如丹皮酚等均可应用本法提取，对一些在水中溶解度较大的挥发性成分可用低沸点非极性溶剂如石油醚、乙醚抽提出来。例如，将徐长卿加水浸泡，然后水蒸气蒸馏，蒸馏液用乙醚提取，醚提取液浓缩即析出丹皮酚结晶。

三、超临界流体提取法

超临界流体提取(supercritical fluid extraction，SFE)方法是利用溶剂在超临界条件下特殊的流体性能对样品进行提取，是自 20 世纪 80 年代迅速发展起来的一种提取方法。许多超临界流体具有较好的扩散性能，与液体相比，具有更低的黏度和更高的扩散速度，使其适合于对植物成分的提取。该方法提取速度快，通过改变压力及加入改性溶剂，可以调整溶剂的溶出能力。选择适当的温度与压力能提高提取的选择性能，并获得更干净的提取物。该方法无需使用大量的有机溶剂，常用的超临界流体为二氧化碳，具有显著的安全性。该法尤其适用于对热及化学不稳定的化合物的提取，以及从混合物中提取低极性的组分[1,2]。二氧化碳超临界流体提取的另一个优点在于在不加改性溶剂时，植物叶子中的大量叶绿素不会被提出。

利用超临界流体提取方法获得的天然产物的种类日益增多。如从烟草中提取尼古丁，从茶叶及咖啡中提取咖啡因，从丹参中提取丹参酮 IIA 等。Liu 报道利用超临界流体二氧化碳从植物星状茴芹中提取茴香脑(纯度＞90％)比用传统的溶剂提取方法更有效，后者不仅工艺繁琐、费时而且成本更高[3,4]。

四、固相提取法

固相提取法有下面两种形式：① 样品中的干扰性杂质被吸附于柱上，而所需的化合物被洗脱下来；② 需要的化合物被保留在柱上，而干扰性杂质被洗脱下来。在上述第二种情况下，固相提取法可起到浓缩的作用，通过更换溶剂可将所需的化合物从短柱上洗脱下来。

固相提取法很适于自动化操作，尤其适用于需对大量样品进行常规纯化时。

Hakala 等将番茄酱的石油醚提取物通过一装有硅胶的短柱，并用石油醚进行洗脱，除番茄红素之外的胡萝卜素类化合物都被洗脱下来。用氯仿可将番茄红素洗脱下来，经过进一步半制备型高压液相色谱分离后得到纯品[5]。

第二节　天然产物的分离

一、经典分离方法

这里所提的经典分离方法是指从早期迄今一直被采用的方法。这类方法一般来说，操作比较简单，无需

复杂、昂贵的仪器。

（一）溶剂法

天然产物的结构千差万别，分子结构中极性基团的多少及取代位置决定了其在不同溶剂中的溶解性。有机物一般具有相似相溶特性，即极性化合物易溶于极性溶剂，非极性化合物易溶于非极性溶剂，同类分子或官能团相似的彼此互溶。

常用溶剂的极性度强弱顺序可表示如下：石油醚（低沸点→高沸点）＜四氯化碳＜二氯乙烷＜苯＜二氯甲烷＜氯仿＜乙醚＜乙酸乙酯＜丙酮＜乙醇＜甲醇＜水。

在获得一提取物之后，用溶剂分配法可快速得到有效部位，同时除去大量不需要的物质。该方法曾被用于从植物中寻找抗肿瘤[6]和抗 HIV[7]的活性组分，以及从番荔枝科植物中检测并分离番荔枝内酯类化合物[8]。

在提取分离皂苷类成分时，可先用工业乙醇提取，对浓缩后的水液依次用低极性溶剂，如氯仿、乙酸乙酯从水中萃取除去亲脂性成分，然后通过正丁醇与水分配可使皂苷类成分富集于正丁醇部位，从而起到初步的纯化作用。在分离生物碱类成分时，在调节水相的 pH 后，利用有机溶剂进行萃取，可使生物碱类成分得到富集，并可使强碱性生物碱与弱碱性生物碱得到初步分离。

实验室提取分离所用有机溶剂通常都呈惰性，即与所处理化合物不起化学反应。但惰性也不是绝对的，如所用的甲醇、乙醇或正丁醇有时会与天然产物中的羧基形成相应的酯；用乙酸乙酯提取分离时，可能发生乙酰基转移；使用丙酮时，可能会与天然产物中的二醇基团形成缩酮结构。充分考虑上述因素，有助于判断所分得的化合物是否真的是天然产物。

此外，在提取内酯类化合物时，可利用其不溶于水，而内酯环遇碱水解成为羧酸盐而溶于水，再加酸酸化，可重新形成内酯环，回复原物而不溶于水的性质，从而与其他杂质分开。例如，从蛔蒿中提取驱蛔有效成分山道年即是利用此性质。

（二）分馏法

利用提取成分具有不同沸点的性质，可使用分馏法对植物成分进行分离。例如，在分离毒芹总碱中的毒芹碱和羟基毒芹碱时，以及分离石榴皮中的伪石榴皮碱、异石榴皮碱和甲基异石榴皮碱时，均可利用常压或减压分馏方法进行初步分离，然后再精制纯化。

（三）沉淀法

利用有机物的溶解性或与某些试剂产生沉淀的性质可实现植物成分的初步分离。对所分离成分来讲，这种沉淀反应应是可逆的。

中性乙酸铅或碱式乙酸铅在水或稀醇溶液中能与许多物质生成难溶性的铅盐或络盐沉淀，利用这种性质可使所需成分与杂质分离。脱铅方法常采用通硫化氢气体，使沉淀分解并转为不溶性硫化铅沉淀而除去。脱铅的方法也可用硫酸、磷酸、硫酸钠、磷酸钠等，但生成的硫酸铅及磷酸铅，在水中有一定的溶解度，所以脱铅不彻底，由于方法比较简便，故实验室中有时仍采用。

沉淀法作为一种初步的纯化方法，过去被用于皂苷类化合物的分离。例如，在分离油茶皂苷时，将油茶饼用乙醇提取，乙醇提取液减压浓缩，残渣加乙醚脱脂，不溶物再溶于乙醇中加乙醚使其中皂苷析出，沉淀物溶于乙醇，加胆固醇的乙醇溶液沉淀，过滤，沉淀干燥后置于索氏抽提器中用苯回流，不溶物为皂苷，苯液浓缩后可回收胆固醇。

几种实验室常用的沉淀剂见表 2-1。此外，还有乙酸钾、氢氧化钡、磷钨酸、硅钨酸等沉淀剂。对多糖、蛋白质类成分等可加丙酮、乙醇或乙醚沉淀。

表 2-1 几种实验室常用的沉淀剂

常用沉淀剂	化合物
中性乙酸铅	酸性、邻位酚羟基化合物、有机酸、蛋白质、黏液质、鞣质、树脂、酸性皂苷、部分黄酮苷
碱式乙酸铅	除上述物质外，还可沉淀某些苷类、生物碱等碱性物质
明矾	黄芩苷
雷式铵盐	生物碱
$NH_4[Cr(NH_3)_2(SCN)_4]\cdot H_2O$	
碘化钾	季铵生物碱
咖啡碱、明胶、蛋白	鞣质
胆固醇	皂苷
苦味酸、苦酮酸	生物碱
氯化钙、石灰	有机酸

（四）膜分离法

利用小分子物质在溶液中可通过具有一定孔径的膜，而大分子物质不能通过的性质可达到分离的目的。膜分离法常用于蛋白质、多肽、多糖等大分子化合物与无机盐、单糖、双糖等小分子化合物的分离，如大豆蛋白的工业化生产中即采用膜分离法。根据所用膜的孔径大小不同可将膜分离法分为超滤及纳滤。膜分离方法因不使用大量有机溶剂具有很大优越性，随着膜分离技术的不断改进，膜分离法在天然药物的研发与生产中将获得更加广泛的应用。

（五）升华法

固体物质受热时，直接变成气态，此现象称为升华。植物中凡具有升华性质的化合物均可用此法进行纯化。例如，樟木中的樟脑、茶叶中的咖啡碱及存在于植物中的苯甲酸等成分。升华法简单易行，但往往产率低，还可能伴有分解现象。

（六）结晶法

植物成分中大半是固体化合物，其中一些化合物可以通过结晶达到分离纯化的目的。由于最初析出的结晶通常会带有一些杂质，需通过反复结晶，才能得到纯粹的单一晶体，所以此步骤称为复结晶或重结晶。

有时植物中某一成分含量特别高，找到合适的溶剂进行提取，提取液放冷或稍浓缩，便可得到结晶。利用结晶法进行植物成分的分离纯化，不需复杂的仪器设备，相对于制备色谱分离方法，成本低，适于大量制备。尽管如此，目前利用结晶法研究植物化学成分，效率已显太低，对于一些微量成分或难以结晶成分的分离，结晶法更是无法奏效。但需利用 X 射线衍射方法确定化合物分子结构时，获得好的单晶仍是重要的。

需要结晶的溶液，往往呈过饱和状态。通常是在加温的情况下，使化合物溶解过滤除去不溶解杂质，浓缩，放冷，析出。在探索过程中，对未知成分的结晶浓度很难预测。有时溶液太浓，黏度大就不易结晶。如果浓度适中，逐渐降温，有可能析出纯度较高的结晶。X 射线衍射用的单晶即采用此法制备。在结晶过程中溶液浓度高则析出结晶的速度快，颗粒较小，夹杂的杂质可能多些。

结晶所选用溶剂最好能对所需成分的溶解度随温度的不同而有显著的差别，即热时溶解，冷却则析出。对杂质来说，在该溶剂中应不溶或难溶，也可采用对杂质溶解度大的溶剂而对欲分离物质不溶或难溶，则可用洗涤法除去杂质后再用合适的溶剂结晶。重结晶用的溶剂可与结晶溶剂相同，也可不同，达到利用不同溶剂结晶除去不同杂质的目的。

化合物不易结晶，一种可能是由其本身性质决定，如大多数皂苷类化合物；另一种可能在很大程度上是由于纯度不够，夹杂不纯物引起的。若是后者就需要进一步分离纯化。若是因本身性质的原因，可采用制备具有结晶性的衍生物，然后用化学方法处理回复到原来的化合物，达到分离纯化的目的。如分离生物碱类化合物时，常通过成盐来达到纯化的目的，常用的有盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、过氯酸盐和苦味酸盐等。例如，粉末状莲心碱是通过过氯酸盐结晶而纯化的。在分离美登素时，首先制备成 3-溴丙基美登素结晶，再经

水解除去溴丙基而得到美登素结晶，以此作为晶种而得到较多的美登素结晶。此外，也可利用某些化合物与某种溶剂形成复合物或加成物而结晶，如穿心莲内酯亚硫酸氢钠加成物在稀丙酮中容易结晶。但有些结晶性化合物在用不同溶剂结晶时也可形成溶剂加成物，如汉防己乙素能和丙酮形成结晶的加成物。千金藤素(cepharanthine)能与苯形成加成物结晶。由于复结晶溶剂不同，有时呈双晶现象，熔点可以有很大的差别。如血根碱(sanguinarine)在乙醚、氯仿和乙醇三种溶剂中所析出的结晶熔点不一样，分别为 266 ℃、242～243 ℃和 195～197 ℃。

结晶的形状很多，常见为针状、柱状、棱柱状、板状、片状、方晶、粒状、簇状及多边形棱柱状晶体等。结晶形状随结晶的条件不同而异。每种化合物的结晶都有一定的形状、色泽和熔点，而非结晶物质则不具备上述物理性质。纯结晶性化合物都有一定的晶形和均匀的色泽，通常在同一种溶剂下结晶形状是一致的。纯化合物结晶的熔点熔距应在 0.5 ℃左右，但由于晶体结构的原因可允许在 1～2 ℃内。

(七) 几种杂质的脱除

1. 叶绿素的脱除

叶绿素能溶于一般有机溶剂，特别是氯仿、乙醚等低极性溶剂，也溶于氢氧化钠碱性溶液。例如，从毛花洋地黄叶中提取地高辛时，在叶粉发酵后，用 70% 左右乙醇提取，浓缩后，用氯仿提取残留水液，合并氯仿提取液，再用稀碱溶液洗涤去除叶绿素，再用丙酮提取产物[9]。如果不存在溶解度的问题，将提取物通过一个装有十八烷基硅胶(C-18)的柱子可把其中所含的叶绿素方便地去除。例如，在从植物 *Dryas octopetala* (Rosaceae)中分离黄酮苷之前，先将该植物的乙醇提取物通过一硅胶短柱以除去其中的单宁，然后再经过一个 C-18 短柱可清除其中所含的叶绿素[10]。

2. 蜡状物质的脱除

蜡质可溶于石油醚和乙醚，植物常用这些溶剂处理先去除蜡质，再进一步用其他溶剂提取。也可用乙腈处理植物提取物，除去其中所含的蜡质。Elliger 等将植物 *Petunia integrifolia* (Solanaceae)的氯仿提取物悬浮于沸腾的乙腈中搅拌 1h，冷却至 5 ℃后，析出蜡状的固态物质[11]。Zheng 在对植物大花黄花蒿 *Artemisia annua* (Asteraceae)中具有细胞毒性的黄酮类和萜类物质进行分离的过程中，也采用了乙腈沉淀的方法[12]。对该植物的地上部位先以己烷提取，提取物溶于 20 mL 氯仿中，蜡状物质在加入 180 mL 乙腈后析出。

3. 单宁类物质的脱除

在进行生物活性测试时，有时要求从植物提取物或某一部位中去除单宁类物质。使用聚酰胺柱色谱法可有效脱除单宁类成分，但由于其选择性较差，有时也会吸附一些除单宁之外的多酚类化合物，有一定的不足之处。Tan 等将该方法用于筛选植物提取物对 HIV-Ⅰ型逆转录酶的抑制活性，并比较了几种去除单宁的方法[13]。对于少量用于生物活性测试的植物提取物，可取 3 mg 该提取物溶于最少量的水中，然后加到装有 400 mg 聚酰胺粉的玻璃柱(10 cm×0.6 cm)上。依次用 2 mL 水、2 mL 50% 甲醇及 5 mL 无水甲醇洗脱，收集所有的流分。甲醇可将含有两个或三个酚羟基的非单宁类化合物洗脱下来，即大部分的黄酮类化合物可被回收。该方法存在的问题在于一些具有酚羟基的非单宁类物质也可能被除去。如果想要除去所有的酚类化合物，采用乙酸铅沉淀法是最有效的途径。

二、色谱分离方法

色谱方法的起源与天然产物的研究工作关系密切。早在 20 世纪初，Tswett 首先应用液固吸附色谱成功地分离了植物色素。直到 20 世纪 30 年代，Kuhn 和 Lederer 在氧化铝和碳酸钙柱上制备型地分离了 α-、β-胡萝卜素后，色谱分离技术才引起化学家的重视。20 世纪 60 年代末出现了高效液相色谱，它在分离速度及分辨率上比起经典的液相柱色谱具有更大优越性。高效液相色谱仪可配以紫外、折射率、蒸发光散射、荧光等不同类型的检测器，用于各种化合物的分析、制备。近年来，高效液相色谱仪与质谱、核磁共振谱仪的联

机使用,更加提高了高效液相色谱仪的应用范围和效能。对于植物化学成分的常规制备型分离,采用高效液相色谱成本较高,通常被用在最后的分离纯化阶段。除普通的常压柱色谱与高效液相色谱之外,还有多种植物化学实验室常用的色谱分离方法。本节将从实用观点出发,对各种色谱方法进行简单介绍。

(一) 基本原理

色谱法是利用不同的物质在固定相与流动相中不同的平衡分配系数来进行分离的一种方法。在色谱分离中,试样混合物在固定相和流动相之间连续不断地进行分配以达到平衡,不同的化合物由于它们之间的理化性质的差异,在两相中存在量也各不相同。

(二) 色谱法的分类

色谱分离所用的固定相与流动相互不相溶。流动相只能是气相和液相,固定相只能是固相和液相。当流动相为液体时,称液相色谱;当流动相为气体时,称气相色谱。

液相色谱(liquid chromatography)可分为液-固色谱(liquid-solid chromatography)和液-液色谱(liquid-liquid chromatography);气相色谱(gas chromatography)可分为气-固色谱(gas-solid chromatography)和气-液色谱(gas-liquid chromatography)。

另一种分类方法是按色谱过程的机理来分类。利用吸附剂表面对不同组分吸附性能的差异来达到分离的目的,称吸附色谱。利用不同组分在流动相和固定相之间的分配系数不同而分离的,称分配色谱。利用分子大小不同而阻滞作用不同进行分离的,称排阻色谱。利用不同组分对离子交换剂亲和力不同进行分离的,称离子交换色谱。另外,根据固定相与流动相的相对极性大小,又可分为正相色谱与反相色谱。

(三) 液固色谱分离

液固色谱分离中,固定相可呈薄层形式铺在玻璃板或其他载体上,也可装在色谱柱内,前者称为薄层色谱,后者称为柱色谱。

1. 制备型薄层色谱

制备型薄层色谱是将吸附剂均匀地铺在玻璃板上,把欲分离的样品点加到薄层上,然后用合适的溶剂展开而达到分离的目的。它具有简便易行,快速灵敏等优点,常用的吸附剂为硅胶及氧化铝,可用它来分离亲脂或亲水性物质。

在传统的制备型薄层色谱中,流动相靠毛细管作用力流经固定相。此外,流动相可靠外力强迫流经固定相,如离心薄层色谱和加压薄层色谱[14,15]。

(1) 传统制备型薄层色谱

传统制备型薄层色谱(PTLC)可以用来分离克级的样品,但在大多数情况下人们采用该方法来分离毫克级的样品。该方法可配合柱色谱用于天然产物分离,是最简单的制备型分离方法之一。

薄层板最好先用溶剂展开一次,以减少所需化合物从吸附剂洗脱下来时可能混入的杂质。上样前先将样品溶于少量溶剂,低挥发性溶剂可引起点样带变宽,因此最好选用挥发性溶剂。点样带应尽可能狭窄,以获得更好的分离效果。如点样带太宽,可用高极性的溶剂将薄层板展开至点样带上端约 2 cm 处,可起到浓缩的作用。然后将薄层板干燥,再用所需溶剂展开。

PTLC 板的分离效果受许多因素影响。一般来讲,一块 1 mm 厚的 20 cm×20 cm 硅胶板或氧化铝板可分离 10~100 mg 的样品。色谱板的尺寸可根据样品量与展开容器的大小而定,当样品量较大时,可在展开容器内放入多块制备型薄层同时展开。为尽量减少边缘效应,可在容器四周放一张浸入展开剂的滤纸促进容器被展开剂蒸气饱和。

PTLC 所用的洗脱剂条件可由分析性 TLC 来选择确定。由于两者所用吸附剂的颗粒大小几乎相同,可将分析性 TLC 的展开剂条件直接用于 PTLC。在溶剂系统中加入少量的乙酸或二乙胺可改进对酸性或碱性化合物的分离效果。同进行分析性 TLC 一样,通过采用多次展开的方法可以提高 PTLC 的分离效果。

在展开完成后，根据色带的位置将其从薄层板刮离，然后以尽可能低极性的溶剂将化合物从吸附剂中提取出来。应避免化合物与吸附剂接触的时间过长，以防化合物被破坏。甲醇可溶解硅胶及其中含有的一些杂质，不适用于从吸附剂上洗脱被分离的化合物，较合适的溶剂是丙酮、乙醇或氯仿。PTLC 吸附剂中含有黏合剂及荧光指示剂，很可能也被提取出来。可用 Sephadex LH-20 过滤除去存在的这些杂质。

(2) 离心薄层色谱

传统的制备型薄层色谱具有一些不足之处，主要包括需将被分开的化合物色带从薄层板上刮下，并将其从吸附剂上提取出来；分离所需时间较长；在用溶剂对色带内化合物进行提取后，可能混入来自于吸附剂的杂质。为克服上述缺点，人们发明了离心薄层色谱法。离心薄层色谱技术主要是在传统的 PTLC 基础上运用离心力，促使流动相加速流经固定相。离心薄层色谱分离过程如图 2-1 所示。在加入样品后，随着洗脱液的洗脱，可得到各组分的同心圆状色带。圆的色谱板被置于覆盖石英玻璃的色谱室内，这样可借助紫外灯对无色但有紫外吸收的色带进行观察。在色谱板的边缘，色带快速旋转脱离色谱板，并经色谱室内的流出管收集。然后可利用薄层色谱对所收集的流分进行分析。为防止样品被氧化，可持续向色谱室内通入氮气。

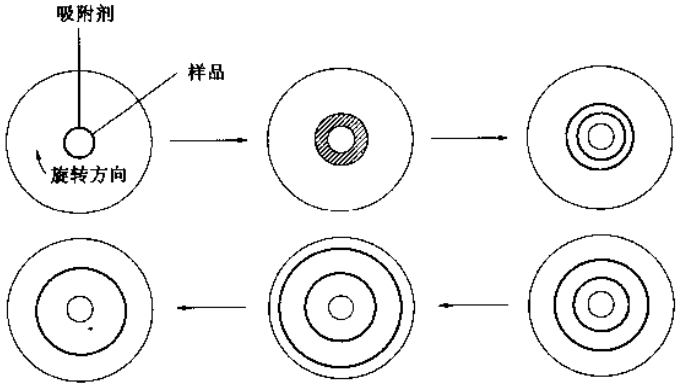


图 2-1　离心薄层色谱分离过程示意图

制备型离心薄层色谱可用于分离 100 mg 左右的样品。其分辨能力低于制备型 HPLC，但操作简单，分离所需时间短。它与制备型薄层色谱相比，主要优点在于上样方便；产物可被洗脱下来，而无需将吸附剂刮下；可采用梯度洗脱方式；薄层经处理后，可反复使用。所用吸附剂除了普通薄层色谱用硅胶、氧化铝外，还可采用离子交换剂、葡聚糖凝胶等。

2. 柱色谱

相对于制备型薄层色谱，柱色谱可采用较大直径的色谱柱及更多的固定相，用以分离更大量的样品。

(1) 常压柱色谱

常压柱色谱是靠重力驱动流动相流经固定相的一种分离方法，因其操作简单而得到普遍应用。但常压柱色谱分离速度慢，只适合使用颗粒度较大的固定相，以保证足够快的流动相流速。分离时可将样品溶解在少量初始洗脱溶剂中，加到固定相的顶端。当拟分离样品在洗脱剂中溶解度不佳时，可采用固态上样法，即先将样品溶在一定溶剂中，然后加入约 5 倍量的固定相(或硅藻土)。将该混合物在低温下用旋转蒸发仪蒸干或自然挥干，然后把所得的粉末加到色谱柱的上部。在洗脱之前，可在样品上端覆盖一层沙子或玻璃珠，以防样品界面被破坏。常压柱色谱通常被用于粗提取物的初步分离或 R_f 值差别很大的混合物的分离。采用梯度洗脱的方式可以提高常压柱色谱的分辨能力。

为克服常压柱色谱的不足之处，不断有人对制备型柱色谱方法进行改进。下面依次介绍几种常用的制备型柱色谱分离方法。

(2) 制备型加压液相色谱

有别于靠重力驱动的常压柱色谱分离，这里所指的制备型加压液相色谱包括利用各种装置施加压力进行的液相色谱，压力可高达 100bar①。加压在液相色谱中可允许在分离过程中使用颗粒度更小的吸附剂，从而获得更高的分辨率。另外，还可加快洗脱剂的流速，缩短分离时间。在对敏感化合物进行长时间的常压色谱分离时，化合物的结构可能会发生转变，而缩短分离时间的最大优点在于可以避免这种转变的发生。

根据分离中所用压力的大小可把制备型柱色谱区分为快速色谱(约 2 bar)、低压液相色谱(<5 bar)，中压液相色谱(5～20 bar)及高压液相色谱(> 20 bar)。低压、中压与高压液相色谱的压力范围之间会存在一定交叠，只是为了区分方便，才分成这样三类。分离中所用色谱柱及固定相颗粒的大小需根据分离的难易程度而定。一般对于难分离的样品，应采用小颗粒的固定相及稍长的色谱柱，分离所需压力也会加大。

1) 快速色谱　为缩短常压柱色谱的操作时间，Still 等于 1978 年介绍了快速色谱技术[16]。色谱分离时长时间的洗脱可造成敏感化合物的分解，并使色带脱尾，这两个问题在天然产物分离中经常会遇到。快速色谱技术可大大缩短分离所需时间，从而避免产生上述问题。

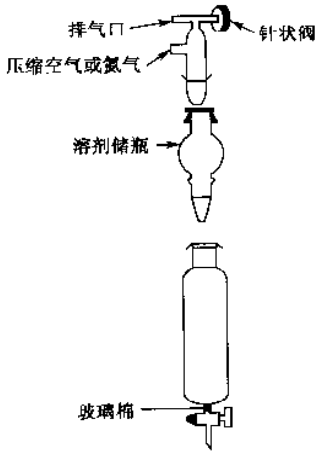


图 2-2　快速色谱分离装置示意图

图 2-2 为一典型的快速色谱分离装置。该装置包括一装有活塞，长度适合的玻璃柱，可用干法或湿法将固定相加入其中。干法装柱效果更好，但需用大量溶剂使固定相完全润湿。在固定相的顶部最好加一层沙子，固定相的上端应留有足够的空间以便反复加入洗脱剂。另外，也可在柱顶部加一球形磨口储液槽。加样后，可施加高于大气压 1 bar 的压力以加速样品的洗脱。在气体入口处可利用一针式阀门控制压缩气体的流速。利用不同尺寸的色谱柱对 0.01～10.0 g 样品所进行的分离通常可在 15min 内完成。

快速色谱中使用最广泛的固定相为硅胶。一些粒度范围较窄的球形硅胶是专门为快速色谱而设计的。此外，也可采用具有一定粒度范围的非球形硅胶[16]。

可采用硅胶快速色谱对天然产物进行最终纯化，但更常见的是用此方法对粗提物或混合物进行初步纯化，然后再利用其他具有高分辨率的色谱技术进行纯化。

Nakatani 等在研究苦木质素类昆虫拒食活性成分时发现一些化合物在常压硅胶柱上逐渐被破坏，只有使用快速色谱分离和半制备型 HPLC 技术才能最终获得纯品[17]。

2) 低压液相色谱　目前，使用最广泛的低压液相色谱系统是 E. Merck 公司生产的 Lobar 柱系列产品。预制色谱柱是由玻璃制成，规格分为 A、B、C 三种型号，预制色谱柱的填料有硅胶、RP-18、RP-8、NH_2-、CN-及 diol 键合相硅胶等。表 2-2 列出了各种规格色谱柱的尺寸及最大上样量。色谱柱中的固定相被柱两端的熔融玻璃封闭。色谱柱两端连有聚四氟乙烯环的金属管可与输液泵相连，金属管及聚四氟乙烯环被柱端的旋钮固定于柱体(图 2-3)。

Lobar 柱可用于分离克级的样品，其分离效果有时可接近 HPLC 的分辨率。为获得更高的分辨率或更大的上样量，可将几根柱串联起来使用。Lobar 分离装置的简单性是这类色谱柱得以普遍采用的原因。Lobar柱可以反复使用，反相柱比正相柱的使用寿命要长得多。Lobar柱的固定相颗粒度相对较大(40～60 μm)，因此在低压操作条件下，洗脱液保持较高流速。可用注射器或输液泵将溶于适当溶剂中的样品加进柱内。

有多家国外公司生产的输液泵用于 Lobar 色谱分离系统，如美国 Fluid Metering 公司、瑞典 Pharmacia 公司、美国 Milton Roy 公司的压力泵。国内多家公司生产的蠕动泵可用于反相 Lobar 色谱分离系统，但当使用氯仿、丙酮等有机溶剂进行正相色谱分离时，需采用特殊耐溶剂的乳胶管。此外，也可使用一些中、高压泵于 Lobar 色谱分离系统。在使用加压输液泵时，应连接一压力计，以防压力过高使玻璃柱破裂。

① bar 为非法定单位，1bar = 10^5Pa，下同。

表 2-2　Lobar 色谱柱的尺寸和分离能力

尺寸	填料	长度/mm	内径/mm	外径/mm	上样量
A	LiChroprep S60	240	10	13	每 0.3－1 mL 最多 0.2 g
A	LiChroprep RP-8	240	10	13	最多 0.2 g
A	LiChroprep RP-18	240	10	13	最多 0.2 g
B	LiChroprep S60	310	25	28	每 1－5 mL 最多 1 g
B	LiChroprep Diol	310	25	28	每 1－5 mL 最多 1 g
B	LiChroprep CN	310	25	28	每 1－5 mL 最多 1 g
B	LiChroprep NH_2	310	25	28	最多 1 g
B	LiChroprep RP-8	310	25	28	最多 1 g
B	LiChroprep RP-18	310	25	28	最多 1 g
C	LiChroprep S60	440	37	42	每 2－10 mL 最多 3 g
C	LiChroprep RP-8	440	37	42	最多 3 g
C	LiChroprep RP-18	440	37	42	最多 3 g



图 2-3　Lobar 预制柱示意图

人们一般把 Lobar 柱与其他分离方法结合起来使用，将其用作中间或最后的纯化手段。因分离过程中需使用输液泵，一般采用组成恒定的洗脱剂。然而，也有许多采用梯度洗脱的例子。我们曾利用反相 Lobar RP-18 色谱系统从山甘草 *Mussaenda pubescens*（Rubiaceae）中分离得到三萜皂苷类成分，所用溶剂系统为乙醇-水（1.1∶1）和乙腈-水（1∶1）[18]。

3）中压液相色谱　Lobar 色谱分离系统具有使用方便，分辨率较高的优点。然而，用这些色谱柱难以分离 5g 以上的样品。中压液相色谱可采用更长、具有更大内径的色谱柱，可以一次性分离更多的样品。中压液相色谱比低压液相色谱使用的填料颗粒度更小，分辨率更高，需使用更大的压力来维持适当的流速，所需压力可由压缩空气或往复泵提供。先利用分析型 HPLC 可以十分有效地选择适当的溶剂系统。Schaufelberger 和 Hostettmann 介绍了将高压液相色谱溶剂系统转换为中压液相色谱溶剂系统的方法[19]。

Büchi 公司生产全套的中压液相色谱装置，其中包括各种规格的中压色谱柱，可用于分离 100 mg 至 100 g 的样品。活塞泵及可替换泵头可在最大压力为 40 bar 时，使流速在 3－160 mL/min 之间调节。该系统接有溶剂梯度形成装置，并可用各种紫外检测仪检测（图 2-4）。该系统的色谱柱由带有塑料保护膜的强化玻璃制成，因此可以观测到分离的进展情况。柱体大小可从 130 mL 直至 1880 mL。可以将色谱柱连接起来使用以提高分离能力。

在进行中压硅胶柱色谱分离时，可以用干法或湿法装柱。与湿法装柱相比，干法装柱可使固定相填充密度提高 20%。虽然该类色谱柱的最大承受压力只有 40 bar，但使用颗粒度为 15 μm 的固定相可以获得同 HPLC 柱类似的分离效果[20,21]。应用键合相固定相时，应采用湿法装柱。可以用注射器将样品直接加到色谱柱上或使用进样器进样。如在色谱柱前连接一小的样品柱，也可以采用固体上样法。在制备型色谱柱前连一前置柱，在每次分离后将被污染的填料除去，利用甲醇-乙酸乙酯-己烷的冲洗顺序对硅胶固定相进行再生。但在重复使用几次之后，应将固定相废弃。键合相色谱柱更易于清洗，并具有更长的使用寿命。

除 Büchi 公司外，Labomatic 公司，德国 Kronlab 公司与瑞士 Stagroma 公司也生产系列中压液相色谱装置。

中压液相色谱在天然产物分离中多数采用的是硅胶或反相硅胶固定相，但有时也采用聚酰胺或纤维素

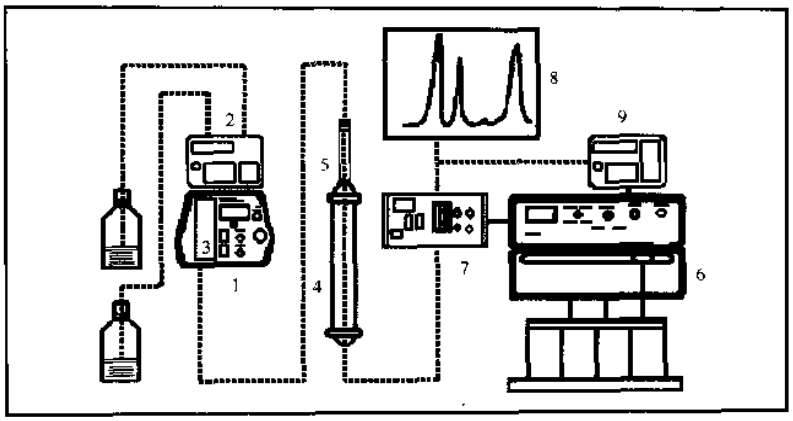


图 2-4 Büchi B-688A 中压液相色谱系统

1—B-688 泵;2—梯度形成器;3—进样装置;4—玻璃柱;5—前置柱;6—流分收集器;7—紫外检测器;8—记录仪;9—峰位检测器

为固定相。

4) 高压液相色谱 相对于中压液相色谱而言,高压液相色谱柱内填装的是粒度范围较窄的细小颗粒固定相,为使流动相流出,需采用较高的压力。例如,在制备型高压液相色谱系统中使用颗粒度为 5～30 μm 的固定相时,系统的复杂性及成本也增大,但分辨率可得到较大的提高。

在许多分离工作中,需要从大量的粗提物中分离出微量成分,通常是在制备分离的最后阶段采用高压液相色谱分离。为提高每次分离获得纯品的数量,制备型高压液相色谱分离通常使样品超载。

随着高压液相色谱仪器的普及,有越来越多的天然产物研究工作采用了制备型高压液相色谱分离手段。

"半制备型"分离是指色谱柱直径 8～10 mm,内装颗粒度为 10 μm 左右的固定相,可用于 1～100 mg 混合物样品的分离[22]。制备型高压液相色谱分离大多采用恒定的洗脱剂条件,这样可减少操作中可能出现的问题。然而,对于那些难分离的样品,有时也需在分离过程中采用梯度洗脱方式[23,24]。

反相色谱柱适用于分离高极性和(或)水溶性化合物。皂苷类成分常具有复杂且非常相近的结构,用其他分离方法很难将其纯化,许多分离工作的最后阶段都采用了反相高压液相色谱。反相硅胶也适用于中等极性化合物的分离,且往往分离效果比正相好。因此,在所有高压液相色谱分离工作中,约有 95% 使用的是 C-18 反相硅胶。

利用大直径色谱柱进行一次分离或利用小直径色谱柱进行多次分离都可获得一定量的纯化合物。当所需纯化合物的量很少时(微克级至几毫克),可利用已有的分析型仪器,而无需在色谱柱、填料及附件方面投入较大资金。另外,还可在很大程度上避免由于放大所产生的问题,使分离速度加快。用尺寸为 250 mm×4.6 mm 的分析型色谱柱每次可进样 5～100μg,通过多次进样分离,可获得足够的纯品。例如,Suzuki 等报道从豆科植物羽扇豆中分离一羽扇豆生物碱糖苷时,其最后的分离步骤采用分析色谱柱进行高压液相色谱分离,洗脱剂为含 25% 甲醇的乙醚溶液－5% 氨水 50∶1[25]。

制备型液相色谱分离通常采用分批进样的方式进行分离。为提高分离效率,Hadfield 等将高压液相色谱改变为一可连续分离混合物的系统[26]。他们将少量的样品以适当的间隔加到一 Whatman Partisil M9 250 mm×9 mm 的色谱柱上,并对流分进行收集。采用这种方法,每 24 h 可对 2.5～3 g 已部分纯化了的苄基葡萄糖苷混合物进行分离。

在高压液相色谱进样之前,需对样品进行过滤。使用能与注射器相连的过滤器可以方便、廉价地除去样品中混有的颗粒状物质,这些颗粒状物质可能损坏高压液相色谱的阀门,阻塞管线或柱子入口端的滤板。目前短色谱柱(如 50 mm×4.6 mm)因分离效果好也常被采用。

(3) 减压液相色谱

减压液相色谱是利用真空为动力来加速流动相流经固定相的一种色谱分离方法。可用减压液相色谱法

替代快速色谱法，在进行高压液相色谱及其他复杂分离之前，对植物提取物进行初步分离。减压液相色谱与制备薄层色谱和快速色谱相比，设备简单，分离全程短，有较理想的分离度，分离容量大。

减压液相色谱的简单操作方式是在一装有熔融玻璃（10～20 μm，D型孔径或2号孔径）的短柱或布氏漏斗中干法加入吸附剂（10～40 μm薄层色谱用吸附剂，如Merck硅胶60H或60G），轻轻敲击装置，使吸附剂在重力作用下沉降。然后通过三通活塞抽真空，并用一橡皮塞压紧吸附剂，直至吸附剂变得坚硬。放气之后，快速向吸附剂的表面加入低极性的溶剂，并继续抽真空。当溶剂流经全部柱体后，将柱抽干，即可准备上样。可将样品溶于适当的溶剂中直接加在柱上部，然后减压小心地将样品抽入吸附剂。另外，也可将样品先吸附于硅胶、氧化铝或硅藻土上。洗脱剂的选择应适当，先用低极性溶剂，然后再逐渐增大溶剂极性，在收集每份馏分后将柱体抽干（可减少馏分之间的相互交叉）。减压液相色谱不同于快速柱色谱，因该方法在收集每份馏分后允许色谱柱流干。减压液相色谱类似于制备型薄层色谱，因后者在完成一次展开、干燥后，还可再次对之进行展开。已有多种吸附剂被尝试用于减压液相色谱分离，其中包括硅胶、氧化铝、聚酰胺及键合相硅胶等。

减压液相色谱因其操作简便，分离速度快，分辨率高而在天然产物化学研究中获得广泛应用。Zarate利用减压液相色谱法分离姜（*Zingiber officinale*）中的辛辣成分，可将姜醇与姜烯酚完全分开[26]。

（4）干柱色谱

干柱色谱法是将干的吸附剂装入色谱柱中，将待分离的样品配成浓溶液或吸附于少量填料上，然后再上样。让洗脱液依靠毛细作用流经色谱柱，当接近色谱柱底部时，停止洗脱，将吸附剂从柱中挖出，用适当的溶剂将各色带中的成分洗出。在干柱色谱中，没有洗脱液从色谱柱流出，色带明显分开。干柱色谱耗时短，且节省溶剂。

可利用具有相同吸附剂的分析型薄层色谱来推测干柱色谱分离的效果。干柱色谱实际上只是制备型薄层色谱形式上的变化，具有相同的分辨能力。先利用薄层色谱选择最佳的溶剂系统，然后进行干柱色谱分离。在使用混合溶剂系统进行干柱色谱分离时，可能达不到分析型薄层色谱所显示的分辨力，这时可在装柱前用10%的流动相对干柱的吸附剂进行预饱和。

在用洗脱液将干柱展开后，需去除色谱柱的支撑物，其中最容易去除的支撑物是尼龙柱。根据展开的色带位置，可用刀将色谱柱或管切成若干段，然后把被分开的化合物用溶剂提取出来并进行过滤。尼龙柱的另一优点是可在紫外灯下观测到无色的色带，以此来指导切割。

填充剂是决定柱效的主要因素，填充剂的颗粒直径越小，直径范围越小，柱的效能越高。若填装均匀，分离的层带就会整齐，分离度也大。另外，若颗粒太小，流速减慢，则传质缓慢，同时移动相线速度减慢，引起纵向扩散，影响分离度。使用过长的柱会引起移动相流速减慢及纵向扩散增加，洗脱时间加长。为了克服上述缺点，提高分离效率，可增加适当的压力使流速稳定。一般所用柱的高度不宜超过50 cm，直径在1～3 cm之间，主要决定样品容量及吸附剂量，通常比例在1∶100以上。

刘嘉森等用国产硅胶（青岛海洋化工厂产品，150～200目）进行干柱色谱，成功地分离了华中五味子中的五味子酯乙与酯丙。同时，用酸性氧化铝（120～200目，Ⅲ～Ⅳ级）干柱色谱分离出五味子酯丁[1]。

Ai和Li将丹参根的95%乙醇提取物用几种溶剂进行分配，对所得的一个部位（45 g）用2.3kg硅胶进行干柱色谱分离（洗脱剂为氯仿-甲醇-甲酸85∶15∶1）。把色谱柱切割成16段，每段吸附剂都用热甲醇洗脱。对第13段和第14段进一步用Sephadex LH-20纯化，得到2.06 g丹参酚酸B（salvianolic acid B）[27]。

3. 液-固色谱分离常用固定相

液-固色谱分离常用固定相的种类有多种，如硅胶、键合相硅胶、氧化铝、聚酰胺、葡聚糖凝胶、离子交换树脂等。上述各种固定相具有各自的特点，可选择用来分离不同类型的化合物。天然产物化学研究中往往需采用不同的固定相进行多次有针对性的色谱分离，才能得到纯化合物。下面就几种常用液-固色谱分离固定相的特点做一简单介绍。

（1）硅胶

硅胶色谱适用范围广，能用于非极性化合物也能用于极性化合物，如芳香油、萜类、甾体、生物碱、苷类、

蒽醌类、酸性、酚性化合物、磷脂类、脂肪酸、氨基酸及一系列合成产物等的分离。

表 2-3 硅胶含水量与活性比较

活性	加入水量/%
Ⅰ	0
Ⅱ	5
Ⅲ	15
Ⅳ	25
Ⅴ	38

正相色谱硅胶为一多孔性物质，可用通式 $SiO_2 \cdot xH_2O$ 表示。它具有多孔性的硅氧环(siloxane)及—Si—O—Si—的交链结构，其骨架表面的硅醇(silanol)基团能通过氢键与极性或不饱和分子相互作用。硅胶的吸附性能取决于硅胶中硅醇基的数目及含水量。随着水分的增加，吸附能力降低(表 2-3)。若吸水量超过 12%，吸附力极弱，不能用做吸附色谱，只可用于分配色谱的载体。硅胶的表面积、表面结构、微孔体积及微孔半径均直接影响着色谱分离的效果。

色谱硅胶应是中性无色颗粒，由于制备过程中接触强酸，常带有酸性，故在使用前应检查其水浸液的酸度，不低于 pH=5 时才可使用；否则应用水洗至中性，再在 110 ℃活化 24 h。硅胶在甲醇、水等强极性溶剂中有一定的溶解性，约为 0.01%。如溶液在 pH=9 以上，则溶解度急剧上升，此点在选择溶剂时应注意；否则会将流分中溶解硅胶误认为植物成分。

有时可以向硅胶中掺入某种试剂，以改良吸附性能，提高分离效果。通常用硝酸银处理过的硅胶对不饱和烃类有极好的分离作用。改良吸附剂的制备一般是将含 1%～10% 填加试剂的水或丙酮溶液与硅胶混匀，待稍干后于 110 ℃干燥即可。

正相硅胶色谱可选择的流动相种类相对较多，为得到好的分离效果，可选择具有一定比例的多种溶剂的混合物作为流动相。可借助于分析型硅胶薄层色谱的结果来摸索制备型色谱的分离条件，在实际色谱过程中也可采用从低极性逐步递增极性的梯度洗脱方式。表 2-4 列出了常用溶剂的介电常数(ε)。

表 2-4 常用溶剂的介电常数

己烷	1.88	洗脱力依次增强
苯	2.29	
乙醚(无水)	4.47	
氯仿	5.20	
乙酸乙酯	6.11	
丙酮	21.5	
乙醇	26	
甲醇	31.2	
水	81.0	

硅胶的再生一般可用乙醇或甲醇洗涤，除去溶剂，烘干活化处理即可使用。必要时用 0.5% 氢氧化钠水溶液浸泡洗涤、过滤、水洗，再以 5%～10% 盐酸浸泡洗涤，最后用蒸馏水洗至中性，110 ℃活化，过筛即可。

对硅胶吸附剂进行去活化可避免样品在色谱柱上被破坏[28]。如使用 50～200 μm 的硅胶为吸附剂，每克硅胶可载样 30 mg，但这种比例只能用于被分离物质的 R_f 值差别很大的情况。更多的情况是每克吸附剂承载 10 mg 样品。如欲达到过滤的目的，可在进行硅胶色谱时上较多的样品。Verzele 和 Geeraert 在从挥发油中分离碳氢萜类及含氧萜类化合物时，每 10 g 硅胶加入挥发油样品 1 g[29]。

目前，在大多数制备型加压液相色谱分离中仍采用硅胶，主要在于其价格低廉，可供选择的溶剂种类多，样品损耗少，分离后溶剂易于除去及分离速度快。

(2) 键合相硅胶

硅胶表面的硅羟基能与正辛醇、氰乙醇及聚乙二醇等在一定温度下加热脱水后生成单分子键合固定相(Si—O—C 型)，与十八烷基三氯硅烷生成烷基化学键合相(Si—O—Si—C 型)。另外，用 $SOCl_2$ 将硅胶表面氯化后，可与各种有机胺反应生成具有 Si—O—Si═N 键的各种不同极性基团的化学键合相。这些键合相硅胶对化合物的分离具有不同的选择性，在液相色谱中占有重要地位，并被普遍应用于高效液相色谱。

根据键合相硅胶的粒度，可将其用于从常压直至高压的各种液相分离。目前，国内已有天津化学试剂二

厂生产多种规格键合相硅胶。在键合相硅胶中，以 C-18 反相硅胶应用最为普遍，它对极性及非极性化合物均可适用。在利用键合相硅胶进行反相色谱时，常用甲醇-水、乙醇-水或乙腈-水为洗脱剂。可用具有相同键合相硅胶的薄层色谱或分析型高压液相色谱进行制备型柱色谱的洗脱剂选择。

键合相吸附剂的应用日趋普遍，这类吸附剂具有许多优点，如减小了样品被破坏的危险，不可逆吸附较少等。

(3) 氧化铝

氧化铝是一种常用的吸附剂，是由氢氧化铝直接在高温下(约 600 ℃)脱水制得。由于制造关系常带有微碱性，对于分离植物中的碱性成分如生物碱颇为理想，但不宜用于醛、酮、酯和内酯等类型化合物的分离，因为有时碱性氧化铝可与上述成分发生反应，如异构化和氧化反应等。可用水洗除去氧化铝中的碱性杂质，再活化即得中性氧化铝。目前除了生物碱等碱性物质外，很少用氧化铝色谱，基本上被硅胶色谱所取代，但氧化铝吸附树脂、叶绿素及其他杂质能力强，常用以预处理提取物，去除杂质，便于以后的分离与纯化，而硅胶对杂质的吸附能力较差，样品处理量相应的比氧化铝低。

氧化铝的活性与含水量关系极大，一般在 200 ℃左右加温 4～6 h活化，除去其中水分，可得 I ～ II 级氧化铝；若要降低活性，可加入一定量的水。活化时氧化铝表面的氧能与水分子结合形成羟基，具有离子交换性质，但温度不宜过高(＜400 ℃)，否则会引起氧化铝晶格的改变，形成不可逆的吸附力下降，而不能供色谱用。通常色谱用氧化铝宜用III级，过高使吸附的选择性能差，有时也可加适量乙酸来降低活性。表 2-5 列出了氧化铝含水量与活性的比较。

表 2-5　氧化铝含水量与活性的比较

活性	加入水量/%
I	0
II	3
III	6
IV	10
V	15

同硅胶色谱一样，在氧化铝色谱中，极性溶剂的洗脱能力较非极性溶剂大，所以逐步递增溶剂的极性，可使吸附在氧化铝柱上的不同化合物依极性大小依次洗脱，达到分离的目的。在实际操作中主要根据薄层色谱的展层来选择柱色谱洗脱剂。

在进行生物碱类成分的研究时，氧化铝填料被成功地用于快速色谱分离。Arslanian 等利用碱性氧化铝为固定相，以乙醚-甲醇混合溶剂为洗脱剂，从 *Lupinus ergenteus* (Leguminosae)中分得生物碱(－)-argyrolobine[30]。徐任生等从植物胀果甘草中分离甘草查尔酮时，经多次探索发现将甘草的氯仿提取物经聚酰胺柱分离后，再用氧化铝柱分离，氯仿洗脱，顺利得到结晶性产物[31]。

(4) 活性炭

活性炭色谱是用来分离水溶性物质的主要方法之一。对植物中的某些苷类、糖类及氨基酸等成分具有一定的分离效果。由于它来源容易，价格便宜，因此适用于大量制备型分离。

活性炭一般分为动物炭、植物炭和矿物(煤)炭三种，分别采用动物的骨头、木屑、煤屑高温炭化而成。目前市售的医药用活性炭及色谱用活性炭多以木屑作原料，加氯化锌在 700～800 ℃高温炭化，活化，经适当处理除去杂质而制成，通常呈粉末状或颗粒状。粉末状活性炭颗粒极细、吸附力强、但流速慢，色谱过程中需要加压或减压操作，难以达到理想的流速。因此，色谱用活性炭通常是颗粒状，虽然总表面积减少，但流速易于控制。

活性炭的吸附作用，在水溶液中最强，在有机溶剂中较弱，故用有机溶剂脱吸附。例如，以乙醇-水进行洗脱时，随乙醇浓度的递增而洗脱力增加，有时也用稀甲醇、稀丙酮、稀乙酸溶液洗脱。

活性炭对芳香族化合物的吸附力大于对脂肪族化合物；对大分子化合物的吸附力大于对小分子化合物；对极性基团(如 COOH、NH_2、OH 等)多的化合物的吸附力大于对极性基团少的化合物。因此，可以利用这些吸附性能的差别，将水溶性芳香族化合物与脂肪族化合物、氨基酸与肽、单糖与多糖分开。

使用前先应将活性炭于 120 ℃加热 4～5h，使所吸附的气体除去。使用过的活性炭可用稀酸、稀碱交替处理，然后水洗，加热活化。有时将粉末状活性炭制成颗粒状锦纶活性炭(1∶2)或与硅藻土(1∶1)混合后装柱，以增加流速，但颗粒状活性炭吸附性能要比粉末状活性炭低。如方圣鼎等从垂盆草(*Sedum sarmentosum*)

中分离水溶性垂盆草苷时就曾用颗粒状活性炭柱去除杂质，再反复用硅胶柱色谱得到结晶[32]。

(5) 离子交换剂

离子交换剂是高分子化合物，具解离性离子交换基团，在水溶液中能与其他阳离子或阴离子起交换作用，而这种交换作用是可逆的。当两种以上的成分被"吸附"在离子交换剂上，用洗脱液洗脱时，它们的被洗脱能力取决于各物质洗脱反应的平衡常数，利用物质"吸附"及脱"吸附"能力的不同进行分离即为离子交换色谱。目前大部分采用合成离子交换剂，一种是单体在聚合前本身就含有交换基团；另一种是首先形成聚合物，然后引进交换基团，其中用途最广的是离子交换树脂。另外，也有在纤维素或多聚糖上人工引入交换基所成的离子交换剂，它们大多用于植物大分子蛋白质、核酸、酶及多糖体的分离精制。

离子交换树脂可分为两大类，即阳离子交换树脂与阴离子交换树脂：

阳离子交换树脂　强酸型—SO_3H

弱酸型—COOH

—PO_3H

阴离子交换树脂　强碱型—$N(CH_3)_3X$

—$N(CH_3)_2(C_2H_4OH)X$

弱碱型—NR_2

—NHR

—NH_2

根据上述原理可采用不同型号的离子交换树脂，将植物中在水中具有一定溶解度的酸、碱与两性成分分开(图 2-5)。植物中的生物碱，特别是水溶性生物碱可用阳离子交换树脂分离与纯化。

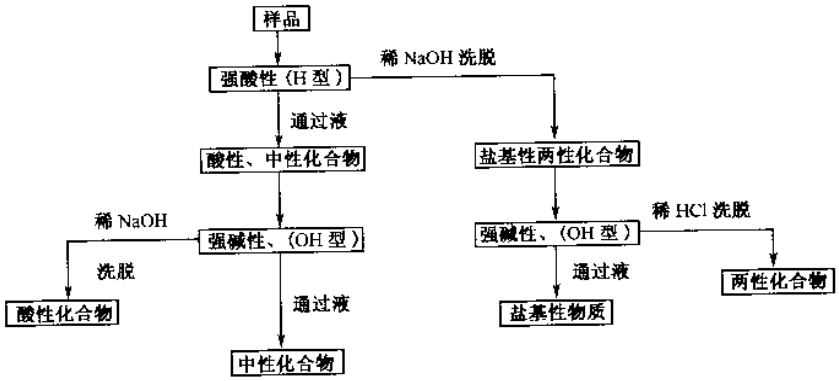


图 2-5　利用离子交换剂分离酸碱及两性成分

影响离子交换的有关因素包括以下几项：

1) 溶液的酸碱度。离子交换剂可以简单地理解为一种高分子不溶性酸或碱，因此溶液的酸碱度对离子交换有很大的影响。当交换溶液中氢离子的浓度显著增高时，因同离子效应，抑制了阳离子交换剂中的酸性基团的解离，故离子交换反应就很少进行，甚至不进行。通常强酸性交换剂交换液的 pH 应大于 2，弱酸性交换剂的交换液 pH 应在 6 以上。同样在阴离子交换剂中，当溶液的 pH 增大时，也会发生同样的情况，故强碱性交换剂的交换液的 pH 应在 12 以下，弱碱性应在 7 以下。

2) 交换离子的选择性。离子交换剂对交换化合物来说，主要取决于化合物的解离离子的电荷、半径及酸碱性的强弱。解离常数大，酸碱性强者容易置换，但洗脱相对来说较难。解离离子价数愈高，电荷愈大，它的吸附性愈强，愈易交换在交换树脂上，碱金属、碱土金属及稀土元素还与它们的原子序数有关，前者原子序数大则交换吸附就强，稀土元素的原子序数小，其交换吸附弱。

3) 被交换物质在溶液中的浓度。离子交换操作通常是在水溶液或含有水的极性溶剂中进行，这样有利于解离与交换。浓度低的溶液对离子交换剂的选择性大。在高浓度时解离度会趋向减少，有时会影响吸附

次序及选择性。浓度过高时，还会引起树脂表面及内部交联网孔收缩，影响离子进入网孔，所以一般实验操作时，所用的溶液的浓度应略高，有利于提取分离。

4）温度的影响。稀溶液温度的改变对交换的性能影响不大，但在 0.1mol/L 以上浓度时，温度升高对水合倾向大的离子容易交换吸附，同时离子的活性系数增大。对弱酸、弱碱交换剂来说，其交换率有较大的影响，一般温度增高，离子交换速度加快。

5）溶剂的影响。通常在水中进行交换，也可采用含水的极性溶剂。

此外，对交换树脂本身来说，交联度大，结构中的网眼较小，大分子离子就不容易进入；反之，交联度小，交联网孔直径大，则易于离子的扩散与交换，因此交联度的大小可以增加交换树脂对被交换物质的选择性。树脂颗粒的大小也会影响交换速率。颗粒小，表面积大，有利于与溶液中的离子接触，增加交换速度。强酸和强碱性的交换树脂交换基团的解离能力强，容易与溶液中的离子交换。

（6）大孔吸附树脂色谱

大孔吸附树脂是一种不含交换基团的、具有大孔结构的高分子吸附剂，也是一种亲脂性物质。大孔树脂具有各种不同的表面性质，如疏水性的聚苯乙烯，可以有效地吸附具有不同化学性质的各种类型化合物。这种吸附的特点是解吸容易。当吸附过程是以亲脂键为主时，随着被吸附物的相对分子质量加大，吸附量也随着增加。吸附剂的表面积愈大，吸附量愈高。通常，大孔吸附树脂的比表面可达 100～600m^2/g，因此它又具有吸附容量大的特点。但对一些有机分子立体结构较大的化合物要考虑树脂的孔径，使分子能进入颗粒间隙。

大孔吸附树脂具有选择性好、机械强度高、再生处理方便、吸附速度快等优点，因此适用于从水溶液中分离低极性或非极性化合物，组分间极性差别越大，分离效果越好。混合组分在大孔树脂吸附后，一般依次用水、含水甲醇、乙醇或丙酮 10%、20%…（体积分数）洗脱，最后用浓醇或丙酮洗脱。再生时用甲醇或乙醇浸泡洗涤即可，必要时可用 1mol/L 盐酸或氢氧化钠溶液依次浸泡，然后用蒸馏水洗涤至中性，浸泡在甲醇或乙醇中备用，使用前用蒸馏水洗涤除尽醇即可应用。

在分离的开始阶段，先将高极性样品通过聚合物担体可很好地除去其中的亲水性杂质（氨基酸、碳水化合物等）。典型的分离过程是先采用大孔树脂色谱，然后再进行硅胶色谱，反相色谱及凝胶过滤等[33]。

对高极性成分进行初步分离的另一方法是使用 Amberlite XAD-2 树脂。这种树脂也可吸附多酚类化合物，因而被用于黄酮类成分的分离[34]。在得到黄酮组分之后，可继续采用其他吸附剂进行分离，得到黄酮单体。

大孔吸附树脂在 20 世纪 70 年代末开始应用于中草药化学成分的提取与分离。用于中草药化学成分提取与分离的大孔吸附树脂型号有 D-101 型、DA-201 型、MD-05271 型、GDX-105 型、CAD-40 型、XAD-4 型、SIP 系列、D-型等。常用的吸附树脂有 D-101 型、DA-201 型（天津制胶厂）、D-型（天津骨胶厂）。

金继曙等采用 DA-201 型大孔吸附树脂分离白芍总苷，收率为 1.5%，且具有操作简便、树脂容易再生、得率恒定、产品质量稳定等特点[35]。

（7）凝胶

凝胶色谱法是 20 世纪 60 年代发展起来的一种分离分析技术，使用的固定相是凝胶，它是具有许多孔隙的网状结构的固体，有分子筛的性质。当被分离物质的分子大小不同时，它们能够进入到凝胶内部的能力也不同。凝胶中的孔隙大小与分子大小有相仿的数量级。当混合物通过凝胶相时，比孔隙小的分子可以自由进入凝胶内部，而比孔隙大的分子就不能进入，因此在移动速度方面就发生了差异。大分子不被迟滞而随溶液走在前面，小分子则由于向孔隙内扩散或移动得到滞留，所以落后于大分子而得到分离（图 2-6），此法称为凝胶色谱（gel chromatography）。这种方法在蛋白质及多糖等大分子化合物的分离中应用较普遍。

从理论上讲，凝胶过滤柱是利用分子排阻效应来发挥分离效能。但当将凝胶用于分离小分子时，溶剂-溶质-固定相之间的相互作用变得重要。凝胶可分为亲水性凝胶和疏水性凝胶。

1）亲水性凝胶。目前最常用的亲水凝胶是交链葡聚糖凝胶，是由葡聚糖（右旋糖酐）和甘油基通过醚桥（—O—CH_2—CHOH—CH_2—O—）相交联而成的多孔性网状结构。交联结构直接影响凝胶网状结构中孔隙

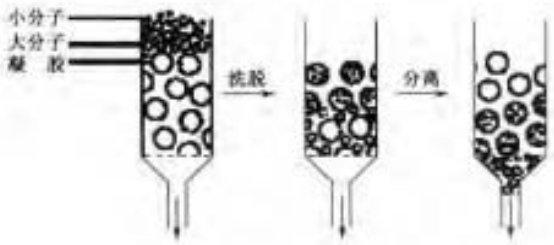


图 2-6 凝胶色谱分离示意图

的大小，交联度越大，网状结构越紧密，孔隙越小、吸水时膨胀也越小；反之，交联度越小，网状结构越疏松，孔隙越大，吸水时膨胀的程度也就大。根据交联度的不同，所能分离成分分子的大小也不同。交联度可用"吸水量"或"膨胀质量"来表示，即每克干凝胶所吸收的水分质量，英文字母 G 代表葡聚糖凝胶，后面的阿拉伯数字表示凝胶的吸水量再乘以 10 的值，如 G-25 的吸水量为 2.5 mL/g。

2) 疏水性凝胶。在交联葡聚糖分子上引入一个基团增大其亲脂性，成为疏水性凝胶。譬如，在 Sephadex G-25 上引入羟丙基基团成醚键的结合状态：R—OH→R—O—$CH_2CH_2CH_2OH$，即成为 Sephadex LH-20，从而使它不仅具有亲水性能吸水，而且膨胀，这就扩大了它的应用范围，适用于难溶于水的亲脂性成分及水溶性成分的分离。目前，在植物小分子化学成分分离中常使用 Sephadex LH-20。表 2-6 列举了葡聚糖凝胶 LH-20 在不同溶剂中浸泡后的床体积。

表 2-6 葡聚糖凝胶 LH-20 在不同溶剂中浸泡后的床体积

溶剂	吸溶剂量/(mL/g)	床体积/(mL/g)
二甲基甲酰胺	2.2	4.0~4.5
水	2.1	4.0~4.5
甲醇	1.9	4.0~4.5
乙醇	1.8	3.5~4.5
氯仿(含 1%乙醇)	1.8	3.5~4.5
氯仿	1.6	3.0~3.5
正丁醇	1.6	3.0~3.5
二氧六环	1.4	3.0~3.5
四氢呋喃	1.4	3.0~3.5
丙酮	0.8	2.4~2.6
乙酸乙酯	0.4	1.6~1.8
甲苯	0.2	1.5~1.6

一般来说，使用过的凝胶不需经任何处理。若加样处颜色较深，可将此部分挖掉。若整个柱体的凝胶颜色较深，可用 0.2mol/L NaOH（内含 0.5mol/L NaCl）处理，再用水洗净。

利用 Sephadex LH-20 进行分子排阻色谱，对天然产物的分离具有重要意义。凝胶可根据混合物中各组分相对分子质量大小的不同对其进行分离，因此非常适用于从样品中除去高相对分子质量成分及聚合物。

Sephadex LH-20 凝胶过滤不仅可作为一种有效的初步分离手段，还可被用于最后的分离工作，以除去最后微量的固体杂质，盐类或其他外来的物质。当纯化合物的量很少时，人们喜欢在分离的最后阶段使用 Sephadex LH-20 凝胶过滤法，原因之一在于它只导致极少的样品损失。以凝胶过滤作为开始的纯化手段也逐渐变得流行起来。

(8) 聚酰胺色谱

聚酰胺(polyamide)是通过酰胺基聚合而成的一类高分子化合物，分子中含有丰富的酰胺基，可与酚类、酸类、醌类、硝基化合物等形式氢键结合而被吸附，与不能形成氢键的化合物分离。

化合物分子中酚羟基数目越多，则吸附力越强。芳香核、共轭双键多的吸附力也大。易形成分子内氢键的化合物，会使化合物的吸附力减少。从聚酰胺柱上洗脱被吸附的化合物是通过一种溶剂分子取代酚性化合物来完成的，即以一种新的氢键代替原有氢键的脱吸附而完成。通常脱吸附剂是在水中递增甲醇或乙醇的含量。如黄酮体苷元与苷的分离，当用稀醇作洗脱剂时，黄酮体苷比其苷元先洗脱下来，而非极性溶剂洗脱其结果恰恰相反，即黄酮体苷元比苷先洗脱下来，这表明聚酰胺具有"双重色谱"的性能，因聚酰胺分子中既有非极性的脂肪键，又有极性的酰胺基团。当用含水极性溶剂为移动相时，聚酰胺作为非极性固定相，其色谱行为类似反相分配色谱，所以黄酮体苷比苷元容易洗脱。当用非极性氯仿-甲醇为移动相时，聚酰胺则作为极性固定相，其色谱行为类似正相分配色谱，所以苷元比其苷容易洗脱，故聚酰胺色谱除了上述化合物外也可用于分离蒽类、甾体、生物碱及糖类。

色谱中常用的聚酰胺是由己内酰胺聚合而成的尼龙－6及由己二酸与己二胺聚合而成的尼龙－66。既亲水又亲脂，性能比较好，可分离水溶性物质，又可分离脂溶性物质。它可溶于浓盐酸、甲酸，微溶于乙酸、苯酚等溶剂，不溶于水、甲醇、乙醇、丙酮、乙醚、氯仿和苯等常用有机溶剂，对碱较稳定，对酸的稳定性较差，尤其是无机酸，温度高时更敏感。

制备柱时是将颗粒状聚酰胺混悬于水中湿法装柱，在用非极性溶剂系统时，则用组分中低极性的溶剂装柱。一般每 100 mL 聚酰胺可上样 1.5～2.5 g，实际上其比例视具体情况而定。样品先用洗脱溶剂溶解，浓度 20%～30%。若不溶解于洗脱剂，可选用易挥发的有机溶剂溶解，拌入干粉中后将溶剂减压蒸去，湿法装入柱顶。洗脱剂常采用水，递增乙醇至浓乙醇液或氯仿、氯仿-甲醇，递增甲醇至纯甲醇洗脱。若仍有物质未洗脱下来，可采用稀氨水或稀甲酸胺溶液洗脱，分段收集。使用过的聚酰胺一般用 5% NaOH 洗涤，然后水洗，再用 10% HOAc 洗涤，最后用蒸馏水洗至中性即可。

聚酰胺薄膜色谱是检出上述化合物的重要手段，它是将聚酰胺溶于甲酸中涂布在涤纶片基上所制成的膜片，待甲酸挥发干燥后即可使用。可用作聚酰胺柱色谱探索分离条件，又可检查柱色谱各流分的成分和纯度。聚酰胺薄膜层析常用展层溶剂系统见表 2-7。若在各种溶剂系统中加入少量酸或碱，可克服色谱中拖尾现象，使斑点清晰。

表 2-7　聚酰胺薄膜层析常用展层溶剂系统

化合物类别	展层溶剂
黄酮苷元	氯仿-甲醇(94:6/96:4)；氯仿-甲醇-丁酮(12:2:1)
	苯-甲醇 丁酮(90:6:4/84:8:8)；氯仿-甲醇-甲酸(60:38:2)
	氯仿-甲醇-吡啶(70:22:8)；氯仿-甲醇-苯酚(64:28:8)
黄酮苷	甲醇-乙酸-水(90:5:5)；甲醇-水(4:1)；乙醇-水(1:1)
	丙酮-水(1:1)；异丙醇-水(3:2)；30%～60%乙酸
	乙酸乙酯－95%乙醇(6:4)；氯仿-甲醇(7:3)；正丁醇-乙醇-水(1:4:5)；氯仿-甲醇-丁酮(65:25:10)
酚类	丙酮-水(1:1)；苯-甲醇-乙酸(45:8.4)；环己烷-乙酸(93:7)；10%乙酸
醌类	10%乙酸；正己烷-苯-乙酸(4:1:0.5)；石油醚-苯-乙酸(10:10:5)
糖类	乙酸乙酯-甲醇(8:1)；正丁醇-丙酮-水-乙酸(6:2:1:1)
生物碱	环己烷-乙酸乙酯-正丙醇-二甲基胺(30:2.5:0.9:0.1)
	水-乙醇-二甲基胺(88:12:0.1)
氨基酸衍生物	苯-乙酸(8:2/9:1)；50%乙酸；甲酸-水(1.5:100/1:1)
	乙酸乙酯-甲醇-乙酸(20:1:1)；0.05 mol/L 磷酸钠-乙醇(3:1)
	二甲基甲酰胺-乙酸-水-乙醇(5:10:30:20)；氯仿-乙酸(8:2)
甾体、萜类	己烷-丙酮(4:1)；氯仿-丙酮(4:1)
甾体苷	甲醇-水-甲酸(60:35:5)；乙酸乙酯-甲醇-水-甲酸(50:20:25:5)

（四）逆流色谱

逆流色谱(counter-current chromatography)的分离原理是基于某一样品在两个互不混溶的溶剂之间的分配作用，溶质中的各个组分在通过两溶剂相的过程中按不同的分配系数得以分离。这是一种不用固态支撑体的全液态的色谱方法。逆流色谱是在逆流分溶法的基础上发展起来的，这种早期的方法是在 20 世纪 40 年代和 50 年代建立的，它具有混合物断续地分流和连续地分流两种方式。逆流分溶法的设备实际上是

由数百个单元部件所组成，溶质在每一个单元的两个液相层之间进行分配，然后将其中的一层转移到下一个单元中去再分配。在逆流分溶法工作过程中，相层在转移之前必须充分实现平衡。逆流色谱同液相色谱相比，它是一个连续的非平衡过程，它的溶剂是连续流通的。

逆流色谱同液固色谱技术相比可避免样品的不可逆吸附现象，并可避免样品因与某些固体固定相相互作用发生的破坏。

1. 液滴逆流色谱

液滴逆流色谱(droplet counter-current chromatography)是在一组垂直排列的分离管内充满液态固定相，使移动相成液滴通过作为固定相的液柱，促使溶质在两相间连续分配(图 2-7)，使用时首先将移动相与固定相溶剂充分振摇平衡，然后分出重相(下层)及轻相(上层)。可以任选一相作为固定相，如重相作为固定相，则轻相作为移动相，称为上行法(ascending method)；反之则称下行法(descending method)。当液滴通过分离管时，固定相在液滴和管壁之间形成薄膜，与液滴接触，同时不断形成新的表面，促进混合物中各组分能够反复地在两相之间分配，有利于分离的进行。这种方法所用的仪器比逆流分溶仪要轻巧简便得多，而且能避免乳化或泡沫的产生。此外，这种方法更加节省分离时间和减少溶剂消耗。用 DCCC 能一次分离毫克级至克级的混合样品，而且在实现分离的过程中物质不会损失。因为移动相是以大量小滴的形式穿过管柱的，这些小滴的骚动会有效地促使溶质在两相之间分配，从而有利于样品中的各个组分获得有效的分离。小滴的大小和骚动性受众多因素的影响，其中主要的是管柱的内径大小，移动相的流速，引入喷嘴的孔径尺寸，两个液相的质量差异，溶剂的黏度和截面张力等。内径为 2 mm 的管柱是最常用的，而在商品化仪器中采用的管柱是 2.7 mm、3.0 mm 和 3.4 mm，分离管由 100 根到 1000 根串联而成。较大内径的管柱具有允许移动相流速高和样品负载量大等优点。分辨力可以通过增多管柱数量的方法予以提高，但是这样做会使分离时间相应的拖长。同时，也应注意到流速的过分提高将导致固定相的流失。用内径是 3.4 mm 的仪器已能一次分离高达 6.4 g 的粗提物样品[36]，采用内径是 10 mm 的大内径管柱甚至能分离 16 g 的样品[37]。

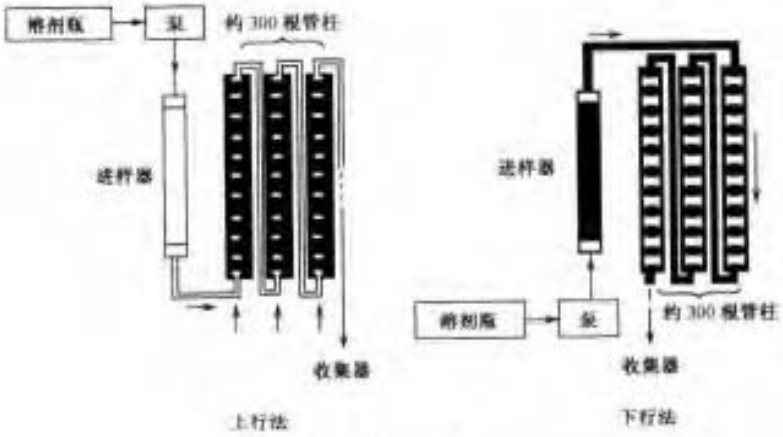


图 2-7 液滴逆流色谱分离示意图

因为两相的极性差异很大，所以两相溶剂系统的选择对于合适的液滴的形成影响很大。有必要用三元的(或四元的)系统来制备两相溶剂，即用附加的第三种溶剂(或第四种溶剂)来调和其他溶剂组分和减缓原始两相的极性差异。其中一种最常用的溶剂系统是由 $CHCl_3$-MeOH-H_2O 组成的混合物。

DCCC 是实验室应用于分离极性天然产物的合适技术，特别是适用于酚类及糖苷的分离。在常规柱色谱过程中，多酚类组分的酸性羟基基团往往会在固定相物质上产生不可逆吸附，而 DCCC 方法则十分适合于分离这类组分。Mahran 等采用 DCCC 分离，从 *Zizyphus spinachristi* (Rhamnaceae)的叶子中获得三萜皂苷，所用的溶剂系统是 $CHCl_3$-MeOH-*n*PrOH-H_2O 9:12:1:8(下行方式)[38]。

DCCC 能实现很好的重现性和有效的分离，能够处理毫克级至克级的粗提物样品，在酸性和碱性分离条件下都能使用。因为不用固态的分离媒质，不可逆吸附和色谱峰区带展宽的现象均可避免。DCCC 同制备

型 HPLC 相比，溶剂消耗量较小，但分离时间过长，分辨率较低，且事前需花较多时间选择合适的分离溶剂系统。随着离心分配色谱的应用，DCCC 的应用正日趋减少。

2. 离心分配色谱(centrifuge partition chromatography，CPC)

逆流色谱有两种基本的原理模式：流体静力学平衡体系(HSES)；流体动力学平衡体系(HDES)。

前面介绍的液滴逆流色谱(DCCC)是靠重力作用的，其缺点是洗脱速度不可能提高，一般的分离过程要花两天或更长的时间。这种逆流色谱体系的管柱中只有 50 %的空间是能形成两相相互混合的有效空间。更有效地利用管柱空间的方法是在移动相流通时使管柱转动起来，使得两相之间迅速建立起流体动力学平衡。这样，能在接近 100%的管系空间里形成两相之间的混合。用移动相或固定相或两相的混合液溶解样品，把它从进样器注入管系，它就会按各组分的分配系数在两相之间进行分配。因为没有用固态支撑体，溶质的保留时间只取决于其分配系数值。因这类装置都具有作用于两相溶剂系统的离心力，所以把这一技术称为离心分配色谱会比称为逆流色谱更准确些。

目前，已有一些商品化的离心分配色谱仪器问世，可将其分为流体动力学平衡系统(HDES)和流体静力学平衡系统(HSES)，这里对主要的一些做简要描述。

(1) 流体动力学平衡系统

流体动力学平衡系统(HDES)中，管柱绕离心仪的中轴线公转，同时以一定的角速度绕自身轴线自转(图 2-8)，这样的运动导致两溶剂相的剧烈混扰，反复混合和分层，对溶质的分配分离极为理想，其分配转移的频率高达每秒 13 次以上，此技术能用很小量的溶剂就能实现快速有效的分离[39]。这一技术已经以高速逆流色谱(HSCCC)的名称流传于世。这种很实用的仪器能在几小时之内分离若干克的样品。

表 2-8 列举了几种实用的离心逆流色谱仪器。按制造厂家的设计，每台仪器上螺旋管(或分离管柱)的数目可以是 1～3 个。通过多个管柱在转动框架上的对称排列，可免去保持仪器平衡的部件。

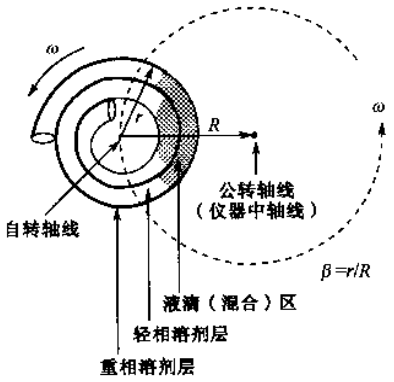


图 2-8　高速逆流色谱仪(ω＝转动速度)

表 2-8　各种离心逆流色谱仪器

仪器名称
流通型螺旋管行星式离心分离仪
水平流通型螺旋管行星式离心分离仪
组合型水平流通型螺旋管行星式离心分离仪
盘绕螺旋管行星式离心分离仪
高速逆流色谱仪
盘绕螺旋管离心分离仪
旋转螺旋管组合装置
正交轴逆流色谱仪

此外，北京新技术应用研究所的张天佑教授等也将水平流通型螺旋管行星式离心分离仪和高速逆流色谱仪商品化。

(2) 流体静力学平衡系统(HSES)

HSES 这种离心逆流色谱不同于前述的流体动力学平衡系统，它的管柱单元固定在离心机中，没有自转，只有一根公转的轴。

1) 柱体式仪器。日本 Sanki Engineering 公司的 Murayama 等在 1982 年著文介绍了这种色谱仪器[40]。在原始的仪器中，分离柱实际上是一些小柱体。这些柱体分布在离心仪转子的周围，它们的纵轴同离心力的方向平行，彼此间用细小孔径的管子相连接(图 2-9)。先在这样的管柱柱体里注满固定相，然后让转子转动的同时泵入移动相，使移动相进分离柱形成一串液滴并穿过固定相。Berthod 和 Armstrong 对这种柱体式仪

器的不同参数进行过研究，仪器的高转速能提高色谱峰的分辨率[41]。要想达到好的分离效果只能在移动相洗脱过程中使固定相的流失不超过 20%～30%，为了满足这一条件，必须慎重地选择转子的转速和泵的压力。此外，移动相流速的增高也能提高分离效率。

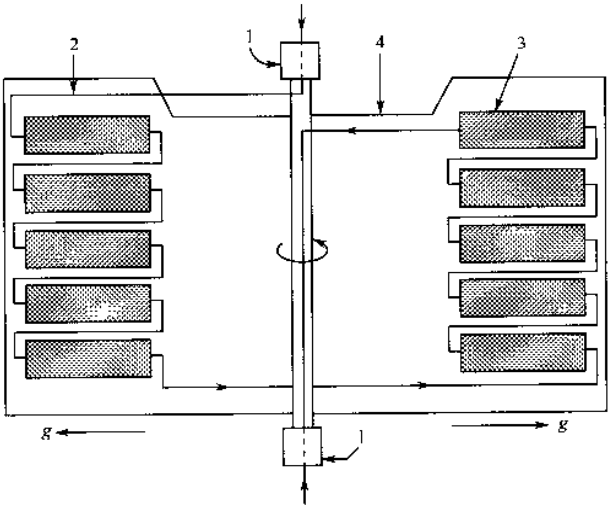


图 2-9 Sanki 公司制造的柱体离心色谱仪

1—旋转密封接头；2—连接管；3—分离柱管；4—转子；g—离心力

仪器产品有以下两种规格：

- 250 W 型仪器，每个柱体有 400 个通道，柱体的总容积是 18 mL，仪器的总体积约是 220 mL。
- 1000E 型仪器，每个柱体有 40 个通道，柱体总容积是 75 mL，仪器的总体积约是 900 mL。

2）盘式仪器。盘式仪器是 1992 年诞生的，最初的仪器在离心机中由两个单元组成，每个单元包含 6 个圆盘，每个盘有 89 个通道。两个盘组的总容积约是 220 mL。日本 Sanki Engineering 公司目前供应下列产品：

- LLB-M（最高转速 2000r/min），有 2136 个分配通道，总容积 230 mL。
- LLL-1.5（最高转速 1500r/min），有 1296 个分配通道，总容积 1360 mL。
- LLI-7（最高转速 1300r/min），有 1040 个分配通道，总容积 5400 mL。

正确地选择溶剂系统对于 CPC 分离的成功是关键的。最有效的溶剂组合应是样品在其中的分配系数为 0.2～5，最好是接近 1。同时，使两相的分层时间尽可能短也很重要。对于 HSCCC 来说，分层时间应短于 30s[42]。如果选定的溶剂系统的上相和下相的体积相近也是有好处的。

目前，CPC 已经作为常规制备型分离技术在天然产物领域用于粗提物和半纯化流分的分离，一次分离样品的量是几毫克至几克。CPC 也被开发作为提取技术，即从大体积溶液中快速浓缩出其中的痕量组分。例如，用溶解了某组分的大量溶液作为移动相，而用对于此组分亲和力强的溶剂作为固定相，以实现有效的浓缩和提取。

银杏 *Gingko biloba*（银杏科）叶的提取物作为治疗脑循环障碍等某些老年病症的药品在全球被广泛使用。可以结合应用 CPC 和半制备 HPLC 技术从银杏叶中分离黄酮苷类组分。其中液-液分离步骤采用梯度洗脱方式，用水作固定相，先用乙酸乙酯进行洗脱，然后逐渐在乙酸乙酯中加入异丁醇，直至乙酸乙酯-异丁醇的比例达到 6:4 为止。通过分离，能从 500 mg 银杏叶提取物中分离出七种黄酮醇苷[43]。

对于皂苷类化合物的分离工作而言，像 DCCC 一样，离心分配色谱也是十分有用的。例如，能用一种 MLCCC 仪器从药用植物 *Centella asiatica*（Apiaceae）的提取物中分离出两种三萜糖苷：asiaticoside 和 madecassoside，这两者之间的差别只是一个羟基基团。所采用的溶剂系统是氯仿-甲醇-异丁醇-水 7:6:3:4，下相作流动相；流速：4 mL/min；一次进样量：400 mg；检测方法：TLC 法[44]。

CPC 技术具有分离速度快、分辨能力高、样品载量大及溶剂消耗量小的特点。当然，CPC 还不能成为制

备级 HPLC 的竞争对手，但当遇到用其他色谱技术不能解决的样品分离问题时，不妨试用选择特性不同的 CPC 技术来予以解决。

三、结　　语

要从含有几千种成分的植物提取物中分离出一种生物活性成分是一项十分艰巨的任务，可能要采用许多步骤的分离。配合使用各种色谱技术是解决问题的最佳途径。在确定一种分离策略时，挑选一些选择性差别尽可能大的方法通常是有益的。如果在分离全过程中只用一种固定相，则可通过变换洗脱剂条件来最大限度地增加其选择性。

随着分离的进行，操作规模会不断减小；因产物纯度的不断提高，相应地导致样品量的减少。这意味着开始采用的分离步骤应能分离较大量的样品，如采用相对便宜的固定相（硅胶、氧化铝、聚酰胺、大孔树脂或离子交换树脂）进行的柱色谱、快速色谱或逆流色谱等。对接下来的少量样品的色谱分离可采用稍昂贵一些的柱填料及仪器。制备型高压液相色谱通常被作为最后的纯化手段。

现代分离技术的采用使天然产物分离科学发生了革命性的变化。新的分离方法使分离速度更快，对复杂混合物具有更高的分辨率，并可经常避免以往不稳定化合物分离过程中所遇到的问题。

高极性天然产物的分离曾是分离科学中的一个难点。许多高极性化合物，如皂苷等，常具有独特的生物活性。早期在分离皂苷类成分时，反复使用氯仿-甲醇-水溶剂系统进行硅胶柱色谱也可得到令人满意的结果，但耗时较长。另外，由于产生不可逆吸附，还会导致样品的损失。目前，随着在分离过程中广泛采用C-18等反相担体，上述缺点得以克服，且更容易纯化获得微量成分。

人们在工作中选用的分离方法取决于所遇到的实际问题，但通过明智地选择分离方法可以解决遇到的绝大多数问题。

参 考 书 目

徐任生、陈仲良 中草药有效成分的提取和分离. 第二版. 上海：上海科学技术出版社，1983

中国医学科学院药物研究所. 中草药化学成分的研究. 北京：人民卫生出版社，1980

Hostettmann K, Marston A, Hostettmann M. 制备色谱技术在天然产物分离中的应用. 赵维民，张大佑译. 徐任生审校. 北京：科学出版社，2000

姚新生. 天然药物化学. 北京：人民卫生出版社，1998

林启寿 中草药成分化学. 北京：科学出版社，1977

徐任生. 天然产物化学. 北京：科学出版社，1993

参 考 文 献

[1] McHugh M et al. Supercritical extraction: principles and practice. Boston: Butterworth, MA, 1986

[2] Westwood S A. Supercritical fluid extraction and its use in chromatographic sample preparation. New York: Chapman and Hall, 1993

[3] 李飘英等. 天然产物研究与开发，1992，4：30

[4] 唐宗俭等. 中国科学，1974，6：15

[5] Hakala S H et al. J Agric Food Chem, 1994, 42: 1314

[6] Pettit G R et al. J Med Chem, 1995, 38: 1666

[7] Gustafson K R et al. J Med Chem, 1992, 35: 1978

[8] Rupprecht J K et al. J Nat Prod, 1990, 53: 237

[9] 湖南医药工业研究所. 中草药资料汇编(2)，1970，91

[10] De Bernardi M et al. J Chromatogr, 1984, 284: 269

[11] Elliger C A et al. J Chem Soc Perkin Trans 1, 1990, 525

[12] Zheng G Q. Planta Med, 1994, 60: 54

[13] Tan G T et al. J Nat Prod, 1991, 54: 143

[14] Nyiredy S Z. Anal Chim Acta, 1990, 236: 83

[15] Erdelmeier C A J et al. Phytochem Anal, 1991, 2: 3

[16] Still W C et al. J Org Chem, 1978, 43: 2923

[17] Nakatani M et al. Phytochemistry, 1994, 36: 39

[18] Zhao W et al. J Nat Prod, 1994, 57: 1613

[19] Schaufelberger D et al. J Chromatogr, 1985, 346: 396
[20] Zogg G C et al. Chromatographia, 1989, 27: 591
[21] Zogg G C et al. J Liq Chromatogr. 1989, 12: 2049
[22] Snyder L R et al. Introduction to Modern Liquid Chromatography, 2nd ed. New York: John Wiley, 1979
[23] Slimestad R et al. J Chromatogr A, 1996, 719: 438
[24] Govindachari T R et al. J Liq Chromatogr, 1996, 19: 1729
[25] Suzuki H et al. Phytochemistry, 1994, 37: 591
[26] Zarate R et al. J Chromatogr, 1992, 609: 407
[27] Ai C et al. J Nat Prod, 1988, 51: 145
[28] Bruno M et al. Phytochemistry, 1996, 42: 1059
[29] Verzele M et al. J Chromatogr Sci, 1980, 18: 559
[30] Arslanian R L et al. J Org Chem, 1990, 55: 1204
[31] 方圣鼎等. 化学学报, 1982, 40: 273
[32] 方圣鼎等. 化学学报, 1962, 28: 244
[33] Mizui F et al. Chem Pharm Bull, 1990, 38: 375
[34] Rosler K H et al J Nat Prod, 1984, 47: 188
[35] 金继曙等. 中国中药杂志, 1994, 1: 31
[36] Hostettmann K et al. Nat Prod Rep, 1984, 1: 471
[37] Komori T et al. Liebigs Ann, 1983, 2092
[38] Mahran G E H et al. Planta Med, 1996, 62: 163
[39] Ito Y J Chromatogr, 1984, 301: 377
[40] Murayama W et al. J Chromatogr, 1982, 239: 643
[41] Berthod A et al. J Liq Chromatogr, 1988, 11: 547
[42] Oka F et al. J Chromatogr, 1991, 538: 99
[43] Vanhaelen M et al. J Liq Chromatogr, 1988, 11: 2969
[44] Diallo B et al. J Chromatogr, 1991, 558: 446

（赵维民）

第三章　结构研究中常用的波谱技术

第一节　核磁共振谱

一、引　　言

二维核磁共振波谱技术对天然产物结构测定的方式已产生了巨大的影响。以往天然产物的结构测定是以积累、渐进的方式进行的，即依赖于前人积累的天然产物知识库。要确定一个具有全新骨架的天然化合物的结构是十分不容易的，往往要通过理化性质测定、波谱数据、化学降解、化学转换、半合成、全合成或晶体结构等手段经过数月，乃至数年的努力才能完成。后人进行某种天然产物的结构研究往往是先要查阅文献，收集有关该生物资源已知代谢产物的信息。然后，对分离纯化得到的化合物通过测定理化性质或进行点滴反应，判断其属于何种化合物类型，再进一步通过波谱数据判断与已知天然化合物库中某个化合物的结构差异，或通过化学变换与已知结构的天然化合物相关联等方法才能确定其结构。至 20 世纪 80 年代，随着 2D-NMR 波谱技术的发展，有可能对组成分子的^{1}H、^{13}C 和^{15}N 等核的性质及其它们之间的连接关系进行详尽的研究，并通过对这些核性质及其连接关系的解析，对天然化合物的结构进行系统的、从头开始（*ab initio*）的结构解析。因此自从那时以来，天然产物的结构研究进入了跃进式发展的阶段：具有新颖构造的天然化合物的结构测定往往只要数周乃至数日就能完成，具有全新骨架的天然化合物层出不穷。当然，这样说并非是要否定天然产物的化学变换、半合成和全合成研究的重要性；相反，天然产物化学研究的根本目的是要了解它们的化学性质和功能，并在此基础上改造其结构和功能，创制具有更好功能的新物质，天然产物的化学变换、半合成和全合成研究是极其重要的、无可替代的。天然产物结构系统测定方法的出现由于免除了对化学变换的依赖，使以往无法鉴定的、结构新颖的、微量天然化合物（结构新颖的天然化合物往往是微量的）的结构测定成为可能，结构新颖的天然化合物结构测定的时间大大缩短，反过来为天然化合物的半合成和全合成提供了新颖目标分子和合成方法的挑战。因此，二者是目标一致的、相辅相成的。

近年来，几乎所有化学、药物化学、生物化学和其他相关专业的学生都学习如何用 NMR 波谱去鉴定化合物的结构。尽管在许多有关 NMR 波谱的教科书和专著中已有这一领域各种新、老技术物理背景及 NMR 参数与化学结构关系的详细介绍。有关采用 NMR 波谱技术测定化合物结构的 know-how，即根据 NMR 数据推导和解析分子结构的策略、技术和方法学的介绍尚不多见。

另外，近年来许多从事天然化合物结构测定和合成的硕士和博士研究生论文提供了大量采用 NMR 成功地进行结构解析的例子。本文在多年研究与教学的基础上，为大学生、研究生提供一个比较系统的、易懂的运用 NMR 波谱测定结构的方法介绍。对于一些在其他教科书、专著中已有详细介绍的专业名词、技术参数和实验方法（如化学位移、自旋-自旋偶合、偶合常数、信号多重度、一次或高阶谱图、化学和磁等价、连续波和傅里叶变换 NMR 谱、自旋去耦、NOE 效应及弛豫和弛豫时间等）这里不再重复，而把重点放在介绍采用一维和二维 NMR 波谱进行结构解析策略和战术思想的运用和以这些策略为基础的天然产物结构的系统解析方法，希望对这一领域的后来者有所帮助。

二、核磁共振结构解析实用基础

核磁共振波谱是一种物理方法，它检测的是组成有机化合物分子的原子核的性质及其与周围化学环境的相互作用。从核磁共振波谱得到的反映核性质的参数，以及周围化学环境对这些参数的影响规律，包含了极其详尽的有机化合物分子结构的信息，并构成了核磁共振结构解析的基础。无论是采用传统核磁共振波谱技术，还是近代二维核磁共振方法测定有机化合物结构，都是运用这些物理有机化学和结构有机化学有关分子结构的知识。其差别在于近代二维核磁共振方法能够更加充分、更加有效、更加灵活地运用这些知识。

本节将核磁共振结构解析的有关基础知识按其在结构解析中的作用，做一简单扼要的介绍。由于这方面的知识是一个十分庞大的信息库，这里无法作包罗万象的叙述，读者如有进一步需要，可参考相关的专著和文献[1～3]。

1. 官能团和结构片断的识别

(1) ^1H 化学位移

许多官能团可根据^1H 化学位移值做出结论性的鉴定，一些重要官能团的^1H 化学位移值列于图 3-1。典型的例子如醛基：δ 9.5～10.5，半缩醛：δ 4.5～6.0，烷氧基：δ 4.0～5.5，环氧丙烷：δ 2.5～3.0，甲氧基：δ 3.5～4.0，N—甲基：δ 3.0～3.5，双键 C═C，C═X（其中 X 为 N,O,S）和芳环上的甲基：δ 1.8～2.5。

化学位移值低于 δ 0.5 的 CH 或 CH_2 质子可能为环丙烷基。乙炔基质子：δ 2.5～3.2，乙烯基质子：δ 4.5～6.0，芳环和杂芳环质子：δ 6.0～9.5，其中富电子杂芳环（吡咯、呋喃、噻酚）质子：δ 6.0～7.0，贫电子杂芳环（吡啶）：δ 7.5～9.5。许多专业书籍和工具手册都有各种有机化合物^1H 化学位移的详尽列表，可供进一步参考。

(2) 重氢（氘）交换

连接于杂原子的质子（XH，其中 X 为 O,N,S）可以通过氢氘交换的^1H-NMR 谱鉴定，用少量的重水 D_2O 处理样品，进行如下的氢氘交换：

$$RXH + D_2O \rightleftharpoons RXD + HDO$$

XH 信号在 1H-NMR 谱中消失，取而代之在 δ 4.8 附近出现 HDO 信号。重氢（氘）交换是确定 XH 官能团存在的有力证据。可用 D_2O 交换的质子信号有烯醇（δ 11～12）、羧酸（δ 9～12）、酚基（δ 5.5～11）、羟基（δ 1～5）、酰胺（δ 6～8.5）、氨基（δ 3.5～5），以及巯基（δ 1～4）。相应地在氘代质子化溶剂中（如 CD_3OD）测定的^1H-NMR 谱中，检测不到 XH 信号。

(3) ^{13}C 化学位移

许多含碳官能团可以通过其^{13}C-NMR 波谱的特征化学位移值而鉴定，重要的有机化合物官能团的^{13}C 化学位移列于图 3-2。例如，各种羰基 C 具有特征的化学位移值：酮羰基 C 出现在 δ 190～220，其中以环戊酮的化学位移值最大。醛基的 C 信号出现在 δ 185～205，虽然与酮基信号的化学位移有所重叠，但是它在^{13}C-NMR谱中以 CH 二重峰出现，容易加以区分。醌酮的羰基出现在 δ 180～190，而羧酸及其衍生物的羰基出现在 δ 160～180；可是酚氧碳原子、碳酸酯、尿素（碳酸衍生物）等的^{13}C-NMR 信号也出现在 δ 160 附近，这可以通过分子化学组成的经验式和红外光谱等附加信息加以鉴别，所以，有关分子化学组成的经验式和红外光谱等对于结构解析同样非常重要。许多专业书籍和工具手册都有各种有机化合物^{13}C 化学位移的详尽列表，可供进一步参考。

其他一些很容易区分的官能团还有氰基：δ 110～120；异氰基：δ 135～150；氰酸酯：δ 105～120；异氰酸酯：δ 120～135；硫氰酸酯：δ 110～120；异硫氰酸酯：δ 125～140。如果在这个区域有单个 C 信号，且分子内含 N 原子，应该考虑分子内可能有上述官能团存在。

此外，甲基 C 信号常常是有用的结构信息来源：醚类甲氧基一般出现在 δ 55～62，酯类甲氧基出现在 δ 52附近，*N*-甲基出现在 δ 30～45，S-甲基一般出现在 δ 25，而连接于双键 C═C 或 C═X（X=O,N,S）的甲基信号，如 CH_3—CO—一般出现在 δ 20 左右。

与^1H 化学位移不同，^{13}C 化学位移一般不能用于区分芳环和杂芳环，烯烃和杂原子取代烯烃。环丙烷碳原子的^{13}C 化学位移值最小。贫电子杂芳环（吡啶）的^{13}C 化学位移大于富电子杂芳环（吡咯类）的^{13}C 化学位移。

除了根据特征化学位移来直接判断特定的官能团的存在外，还可以根据官能团对周围核的化学位移的影响间接地鉴定官能团。多年来，人们总结出了化学位移受周围化学环境影响发生变化的经验规律——取代基效应，这些知识对于分子中官能团和结构片断的鉴定和 NMR 信号的归属同样十分有用。

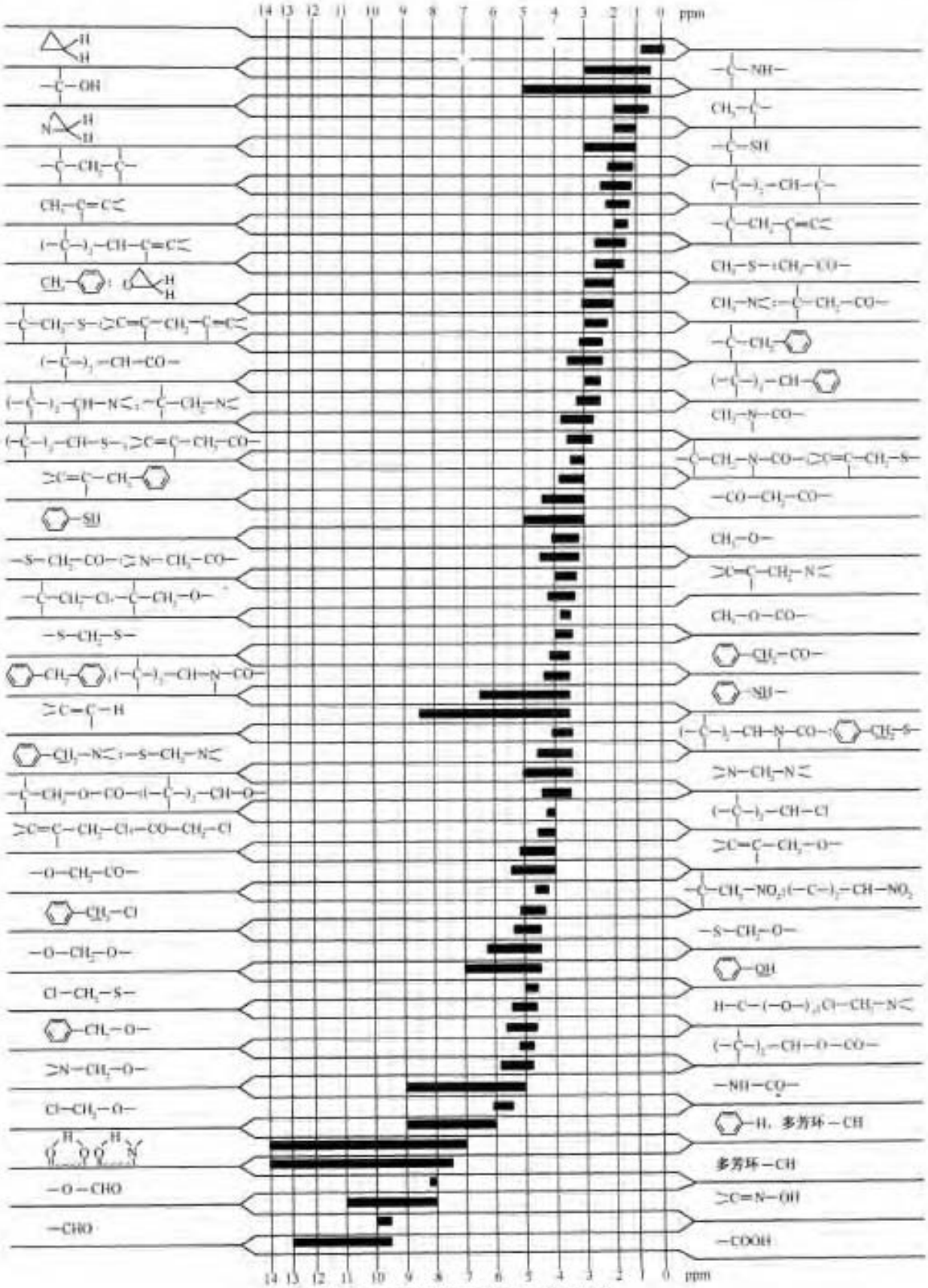


图 3-1　各种官能团中的质子化学位移

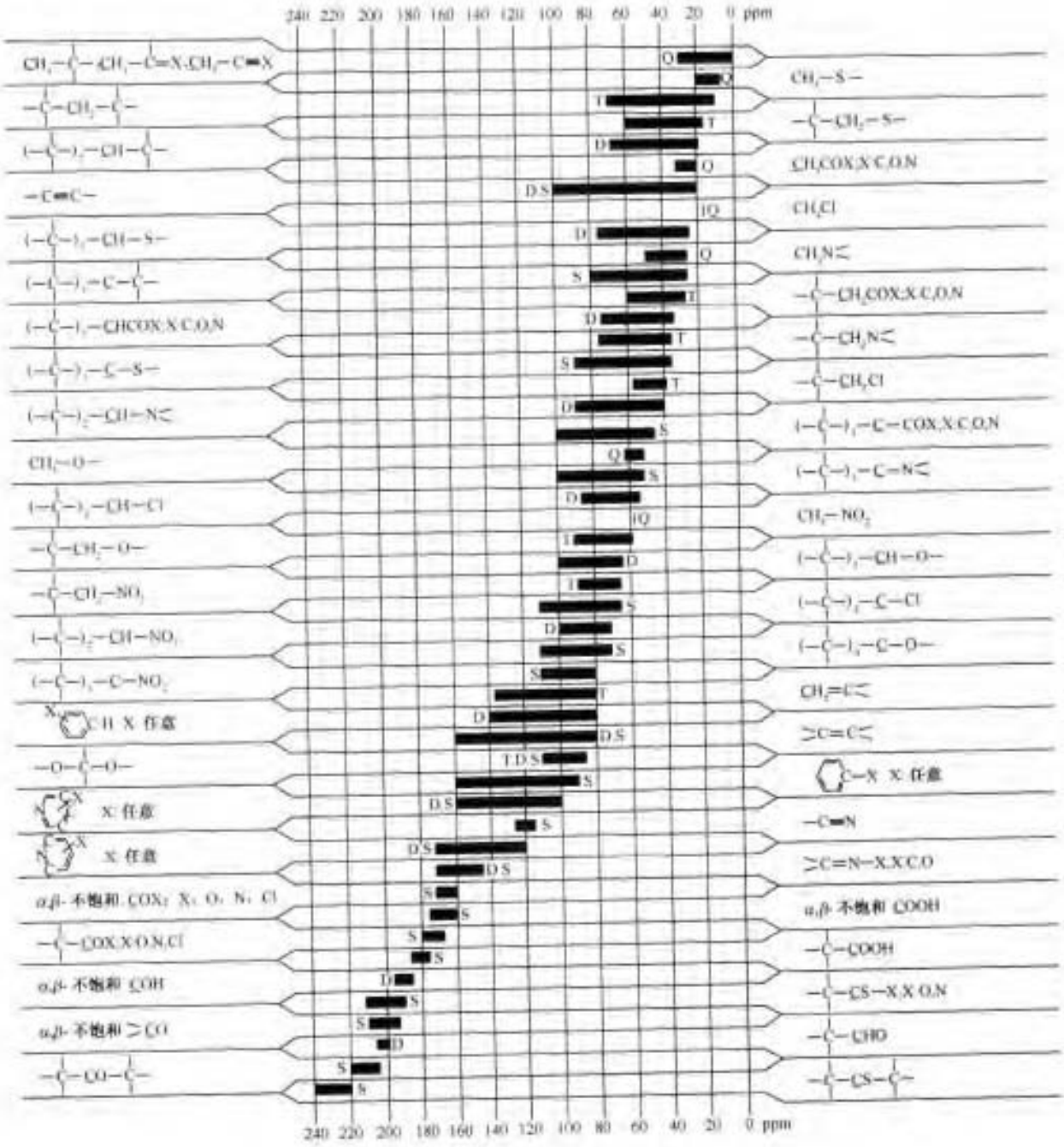


图 3-2 各种官能团中^{13}C的化学位移

例如，如果脂肪族化合物的R—H被X取代，α位碳原子的化学位移δ_C正比于取代基X的电负性(－I诱导效应)增加，β位碳原子的化学位移δ_C一般也增加，而γ位碳原子的化学位移δ_C降低(γ效应)。更远的碳原子几乎不受影响($\Delta\delta_C \approx 0$)。

取代基效应在文献中有详细的列表，在烯烃、芳烃和杂芳烃化合物中，各个碳原子的^{13}C化学位移大体上可以用中介效应或共振效应去预言。因此，在C=C双键上的给电子取代基D(如OCH_3、SCH_3、NCH_3)对β氢原子产生屏蔽作用(+M效应，化学位移值变小)，对α氢原子产生去屏蔽作用(－I效应，化学位移值增加)。吸电子取代基A(如C—O、C=N、NO_2)对双键产生相反的极性，β位的碳原子和氢原子都是去屏

蔽(－M 效应,化学位移值增加)。

这些取代基对芳环和杂芳环的碳原子产生类似的影响,在苯环上的给电子取代基对 α 碳原子有－1 效应;相反,对邻、对位产生＋M 效应(^1H 和 ^{13}C 化学位移值变小),而对间位几乎无影响。与此相反,吸电子取代基 A 对邻、对位产生去屏蔽效应(＋M 效应,^1H 和 ^{13}C 化学位移值增加),对间位也无明显的影响。

(4) ^{15}N 化学位移

传统的核磁共振结构测定很少利用 ^{15}N 化学位移,主要是天然化合物中 ^{15}N 同位素天然丰度低,受灵敏度限制,^{15}N 化学位移获得不易。随着核磁共振谱仪灵敏度的提高,^{15}N 化学位移测定已逐渐成为可能,对于含氮化合物的结构测定很有帮助。官能团和分子片断中的 ^{15}N 化学位移常常可以补充 ^1H 和 ^{13}C 化学位移的信息。图 3-3 显示以氨为参考的官能团的 ^{15}N 化学位移值。它与以 TMS 为参考标准的 ^{13}C 化学位移显然是平行的。相应于羰基、酯基、乙烯基和烷基的 ^{13}C 化学位移依次减小,亚硝基、硝基、亚胺基、胺基 ^{15}N 化学位移也依次减小。

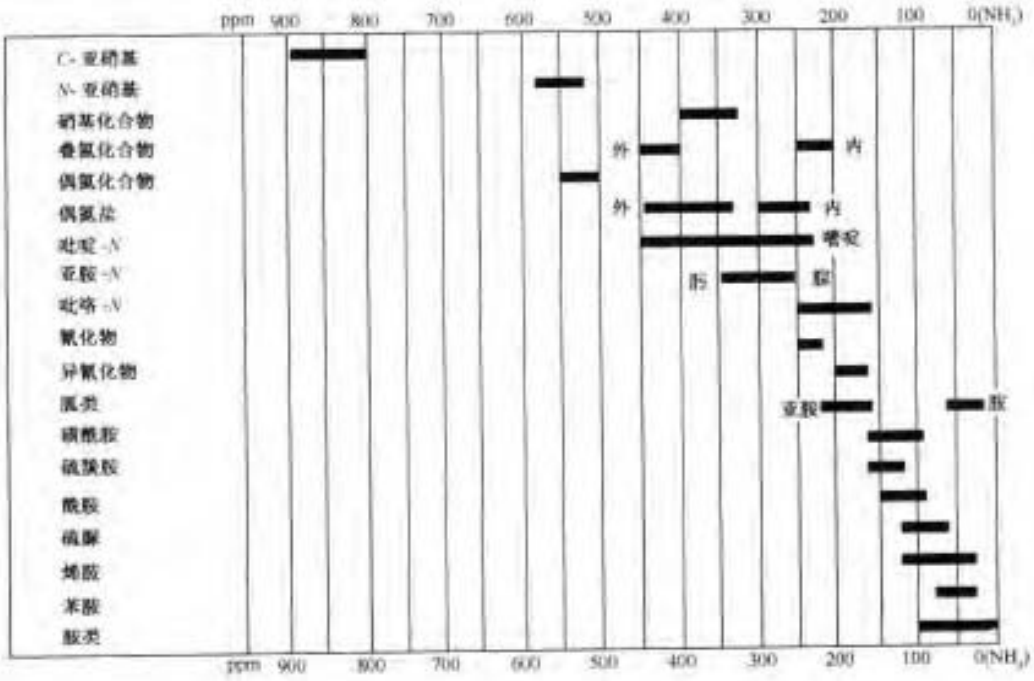


图 3-3　典型含 N 官能团的 ^{15}N 化学位移值

2. 构建分子骨架(原子间的连接)

(1) HH 多重性

^1H共振信号的裂分形态(多重度)通常提示质子与质子通过共价键的标量偶合。因此,可以利用这种多重度信息简单地根据 $n+1$ 规则鉴定有机分子中的结构单元。最简单的是 AX 和 AB 自旋体系,它提示 $-CH_A-CH_{X(B)}$ 结构单元的存在(图 3-4)。略为复杂一些的有 A_2X、A_3X、A_2X_2、A_6X 和 $A_3M_2X_2$ 体系,它们分别提示 $-CH-CH_2$、$-CH-CH_3$、$-CH_2-CH_3$、$-CH(CH_3)_2$ 和 $-CH_2CH_2CH_3$ 构造的存在(图 3-5)。结构解析并不一定需要对复杂谱图中的所有多重度进行完全的分析,如果偶合常数是已知的,根据一个多重信号的特征精细结构常常就可以鉴定一个分子片断,而在烯烃、芳烃和杂芳烃化合物的情况,甚至于可以解析出完整的取代模式。

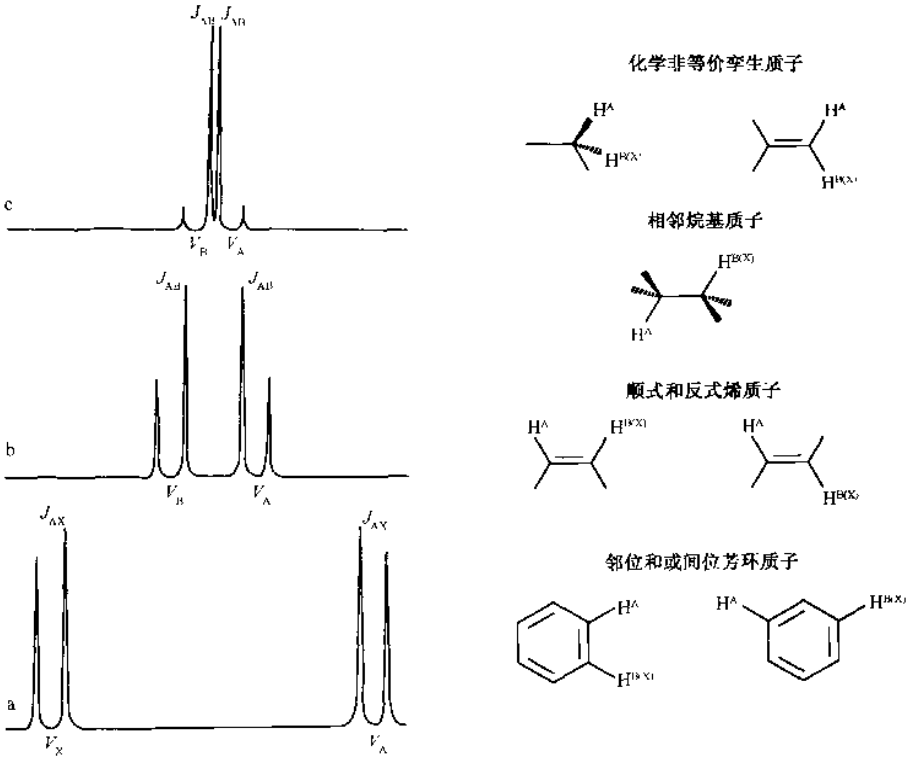


图 3-4 AB 和 AX 自旋体系及典型的分子片断

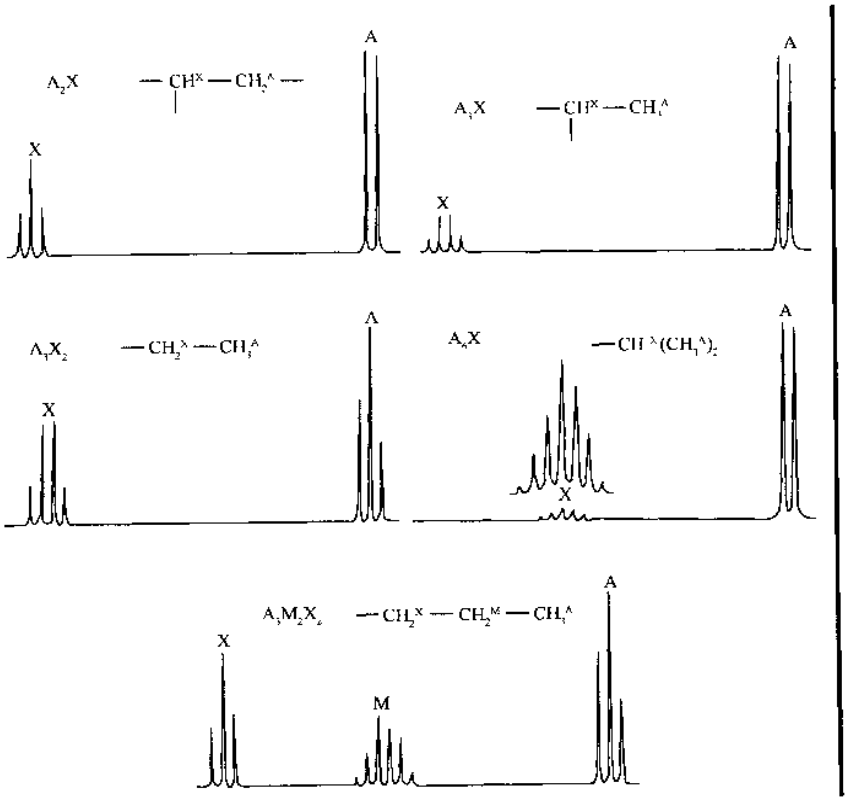


图 3-5 容易识别的 A_mX_n 自旋体系及分子片断

(2) CH 多重性

^{13}C 共振信号的多重性起源于 C—H 单键偶合常数($^1J_{CH}$),它反映 C 原子的不同键合模式:季碳(R_4C,单峰,S)、叔碳(R_3CH,双峰,D)、仲碳(R_2CH_2,三重峰,T)或伯碳(RCH_3,四重峰,Q)。带有 NOE 增强的偶合 ^{13}C-NMR 谱(门控去偶)最适宜于 CH 多重度的解析。如果信号过于密集,裂分信号间的信号重叠会使多重度的解析变得困难,这可以通过偏共振去偶的方法得到解决。DEPT 技术是一种把 CH 信号多重度信息和自旋-自旋偶合转变成为^{13}C 信号的相敏关系的脉冲序列。DEPT 技术的优点是能从^1H—^{13}C 极化转移中得到好处,灵敏度可提高 4 倍。因此,这个技术是测定^{13}C—^1H 多重度最快的方法。更新的技术可以采用二维核磁共振波谱,包括 J 分解二维碳谱(它采用 J 调制和 DEPT 序列)、H,C-COSY 和 HMQC 等杂核二维 NMR 相关技术。

(3) HH 偶合常数

根据质子间偶合路径的长短,可以分为隔二键的孪生(gcminal)质子间的偶合($^2J_{HH}$),隔三键的邻位(vicinal)质子间的偶合($^3J_{HH}$)和相隔四个键和五个键以上的远程偶合($^4J_{HH}$和$^5J_{HH}$)。由于自旋-自旋偶合常数起源于原子核的磁矩和成键电子间的相互作用,它反映了偶合核之间的成键环境。^1H-NMR 谱中隔二键的孪生(gcminal)质子间的偶合($^2J_{HH}$)与隔三键的邻位(vicinal)质子间的偶合($^3J_{HH}$)揭示了这些键的性质。各种质子间的偶合常数的数据在各种专著和手册中有详尽的介绍。

孪生质子间的偶合对连接分子骨架无直接的贡献。但是孪生质子间的偶合常数$^2J_{HH}$特征性地依赖于偶合途中 C 原子的极性和杂化,并且还取决于取代基和 HCH 键角。因此,$^2J_{HH}$偶合常数可以用来识别部分构造,例如区分环己烷(-12.5Hz),环丙烷(-4.5Hz)或末端烯质子(2.5Hz)。此外,还可以用于区分该碳原子上是否有电负性基团,典型的例子见孪生质子间的偶合常数图 3-6。

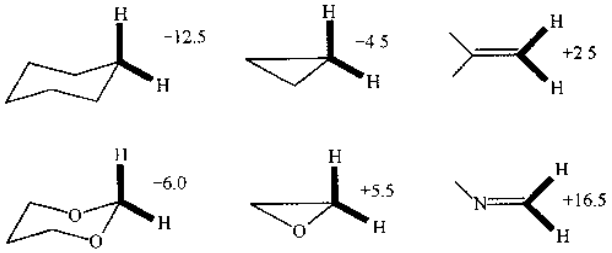


图 3-6　典型孪生质子间的偶合常数$^2J_{HH}$(Hz)

邻位质子间偶合在构建分子骨架方面非常有用。邻位质子间偶合直接导致 H 信号的多重裂分,根据 H 信号的多重度就可以进行分子骨架的连接,这一点前面已做了讨论。因此根据邻位质子间的偶合就可以把这两个质子所连接的 C 原子连接起来。实际运用中遇到的主要问题是如何区分孪生质子间的偶合和相邻质子间的偶合,这个问题留待后文去讨论。邻位质子间的偶合($^3J_{HH}$)除了能够提供分子骨架的连接信息外,它还反映出许多其他结构特征,包括环的大小和 α 位有无电负性基团存在。在有电负性基团存在的情况下偶合常数明显变小,相关的例子见图 3-7。杂芳环如呋喃、噻酚、吡咯和吡啶可根据其电负性杂原子对偶合常数$^3J_{HH}$的特征性效应加以区分。吡啶的 HH 偶合常数反映了偶合质子相对于 N 原子的位置,可以清楚地用来区分是2,3 位质子偶合($^3J_{HH}$=5.5Hz)还是 3,4 位质子偶合($^3J_{HH}$=7.6Hz)。同样五元杂芳环的 HH 偶合常数特别是 2,3 位的偶合常数$^3J_{HH}$可以用来鉴定杂原子,杂原子的电负性越强偶合常数$^3J_{HH}$越小。此外,邻位质子间偶合常数$^3J_{HH}$在决定相对构型方面特别有用,这一点后面还要做详细的讨论。

需要指出的是,远程质子间偶合对于构建分子骨架同样非常重要,它往往能够提供透过季碳原子的连接关系,从而提供邻位质子偶合无法提供的信息。例如,在苯和萘环体系中,邻位($^3J_{HH}$=7Hz)、间位($^4J_{HH}$=1.5Hz)和对位($^5J_{HH}$=1Hz)质子间偶合常数在结构解析中特别有用。在萘环和其他并杂芳环体系中,zig zag 偶合常数($^5J_{HH}$=0.8Hz)对于决定取代模式很有帮助。除了图 3-7 中的芳环化合物中的远程偶合之外,天然

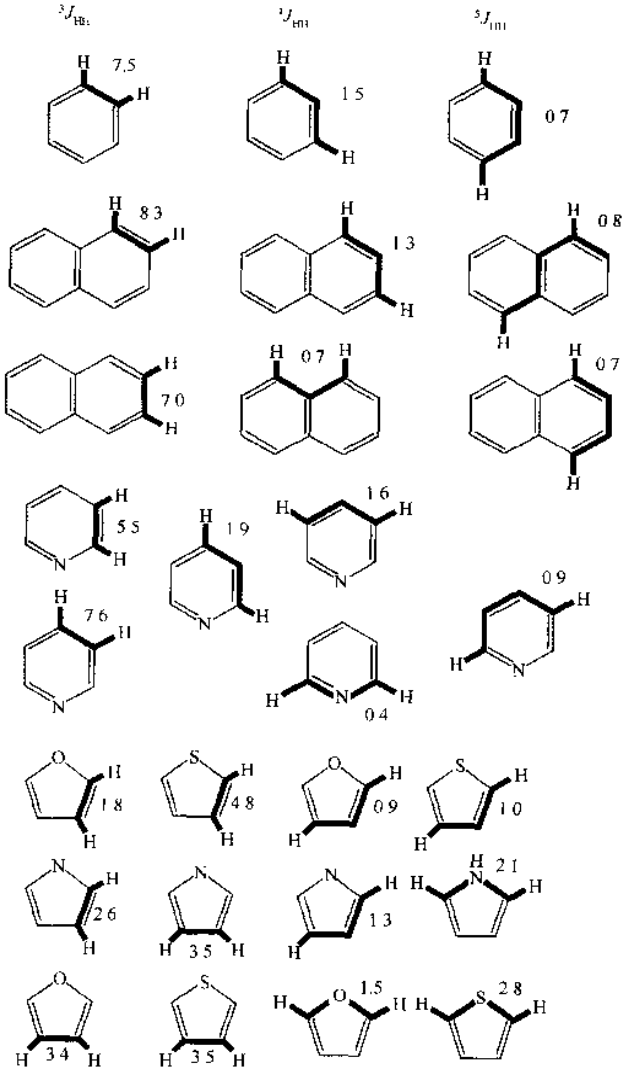


图 3-7 芳环质子间的偶合常数(单位:Hz)

化合物中最重要的远程质子间偶合有烯丙位偶合和 W 形偶合等(图 3-8),它们在天然产物的结构测定中是非常有用的,必须予以重视。

(4) $^{13}C—^{1}H$ 偶合常数

$^{13}C—^{1}H$ 偶合常数是构建分子骨架的基本工具。与 HH 偶合常数十分类似,$^{13}C—^{1}H$ 偶合常数根据偶合路径的不同,可分为 CH 直接偶合($^{1}J_{CH}$)、CH 孪生偶合($^{2}J_{CH}$)、相邻偶合($^{3}J_{CH}$)和 CH 远程偶合($^{4}J_{CH}$,$^{5}J_{CH}$)。CH 直接偶合($^{1}J_{CH}$)能够提供 CH 之间的直接相关信息,根据这个信息就可以把相应的 C 和 H 直接连接起来。在结构解析过程中有了这个信息,根据任何相邻质子间的偶合就可以把相应的 C 原子连接起来。在信号归属过程中,任何质子信号的归属据此可以得到相应 C 信号的归属,反之亦然。

CH 孪生偶合($^{2}J_{CH}$)和相邻偶合($^{3}J_{CH}$)能够提供 C—C 直接连接的信息。在 H—C_a—C_b 结构片断中,由于 H—C_a 的连接可通过$^{1}J_{CH}$偶合关系的解析而完成,因此 H_a 与 C_b 之间的$^{2}J_{CH}$偶合就意味着 C_a 与 C_b 之间的连接。这种相关信息在结构解析中是十分重要的,因为如果 C_b 是季碳原子,C_a 与 C_b 之间的连接是无法通过 HH 偶合关系的解析而得到。类似地,在 H—C_a—C_b—C_c 结构片断中,无论其中碳原子 C_b 与 C_c 中的一个或两个是否是季碳原子,H_a 与 C_c 之间的$^{3}J_{CH}$偶合就意味着 C_a 透过 C_b 与 C_c 之间的连接。甚至碳原子 C_b

为杂原子取代，也不妨碍进行这种结构解析。这种 CH 间隔二键（$^2J_{CH}$）和隔三键（$^3J_{CH}$）的偶合相关信息在结构解析中特别有意义，后文对此还要做深入的探讨。

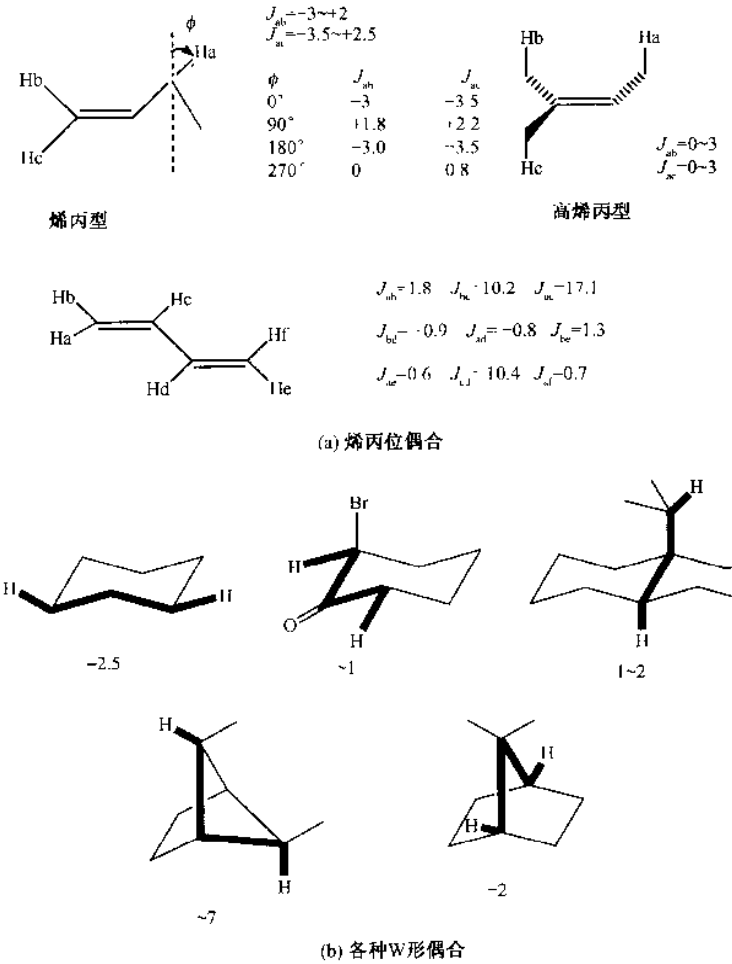


图 3-8　常见的质子间远程偶合常数（单位：Hz）

C,H 直接偶合常数$^1J_{CH}$的符号是正的，其值（100～280Hz）比 C,H 孪生偶合常数$^2J_{CH}$和 C,H 邻位偶合常数$^3J_{CH}$要大得多。C,H 孪生偶合常数$^2J_{CH}$次之，其值在 −20～+66Hz 之间。C,H 邻位偶合常数$^3J_{CH}$的符号总是正的，其值在 0～16Hz 之间。C,H 远程偶合常数$^nJ_{CH}$（其中 $n>3$）的值接近于 0，实验中通常检测不到，对于构建分子骨架意义不大。以下对 CH 偶合常数与结构的关联做一个简要的介绍。

1）影响偶合常数$^1J_{CH}$的最重要的因素是 C 原子的杂化状态。

其值符合经验式：

$$^1J_{CH} = 500 \times s$$

式中，s 为 C—H 键的杂化轨道量子数，对于 sp^3、sp^2 和 sp 杂化的 C 原子，s 分别为 0.25、0.33 和 0.5。因此，很容易借此区分 sp^3 杂化的烷基 C（$^1J_{CH}$=125Hz），sp^2 杂化的乙烯基 C（$^1J_{CH}$=165Hz）和 sp 杂化的炔基 C 原子（$^1J_{CH}$=250Hz）。烷烃、环烷烃和甲基化碳氢化合物的偶合常数$^1J_{CH}$见图 3-9。其中，环烷烃的偶合常数$^1J_{CH}$明显偏离，这是由于杂化效应：环张力改变了 C 原子的杂化状态，C—H 键中的环外轨道的 s 值增加。其中最极端的情况是环丙烷，其偶合常数$^1J_{CH}$表明其 C 原子的环外杂化轨道 s 值几乎与乙烯的杂化相同。存在环张力的多环烷烃无例外的具有大的偶合常数，而甲基的偶合常数$^1J_{CH}$受相邻 C 原子杂化状态的影响，而极性取代基对其偶合常数的影响更大，并且常常显示出可加合性。

偶合常数$^1J_{CH}$的值随着电负性基团，杂原子和取代基在该 C 原子上取代而增加，其典型值为 *O*-烷基

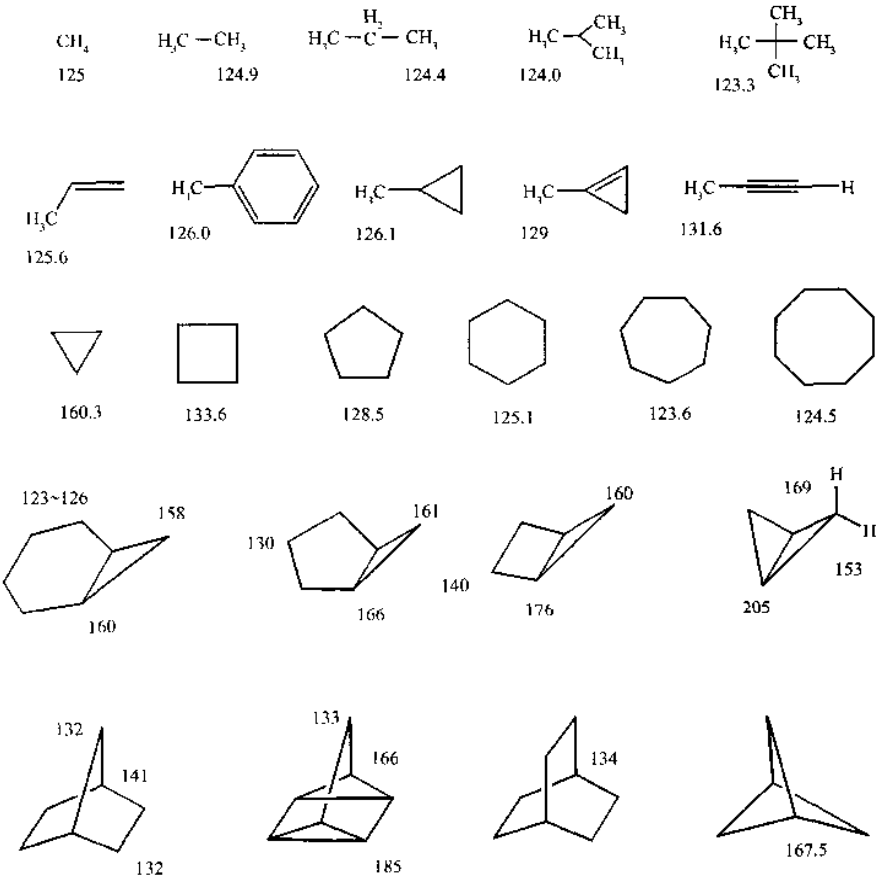


图 3-9 烷烃、环烷烃和甲基化碳氢化合物的偶合常数$^1J_{CH}$(Hz)

145～150Hz，*N*-烷基 140Hz，半缩醛 C 原子 170Hz，环丙烷 160Hz，环氧丙烷 175Hz，环丁烷 135Hz，烯醇醚 195～200Hz，2 位未取代的吡啶和吡咯 180Hz，2 位未取代的咪唑和咪啶 200Hz。对于饱和的杂环化合物，电负性和张力导致的杂环效应同时存在。其中氧杂环的偶合常数最大。但是，杂原子对 β 位偶合常数$^1J_{CH}$的影响非常小。电负性对偶合常数$^1J_{CH}$的影响如图 3-10 所示。这些数据对于结构解析非常有用。

烯烃的偶合常数$^1J_{CH}$在 150～165Hz 之间，类似于烷烃，但取代基效应更大，极性基团取代的烯烃，其 α 碳原子的偶合常数$^1J_{CH}$在 140～200Hz 之间，但是极性基团取代对 β 碳原子的影响很小。烯烃、取代烯烃和环烯烃的偶合常数如图 3-11。

苯并类芳香化合物的偶合常数$^1J_{CH}$变化不大，其值与苯环本身相似。苯并类芳香化合物的偶合常数$^1J_{CH}$列与图 3-12。单取代的苯环显示较小的取代基效应，常见取代基的苯衍生物的偶合常数$^1J_{CH}$列于图 3-13。由于电负性原子的作用，杂环芳烃的偶合常数$^1J_{CH}$增大。典型的杂环芳烃的偶合常数$^1J_{CH}$列于图3-14。某些不饱和环状化合物的偶合常数$^1J_{CH}$列与图 3-15。

2) 孪生^{13}C—^1H 偶合常数($^2J_{CH}$分布非常宽，在 -10～$+66$Hz 之间)。

烷烃、烯烃、芳烃及其衍生物的偶合常数$^2J_{CH}$在 -10～$+20$Hz 之间，醛基的偶合常数$^2J_{CH}$通常在 $+20$～$+50$Hz 之间，而乙炔的偶合常数$^2J_{CH}$在 $+40$～$+66$Hz。

烷烃、环烷烃及其衍生物的偶合常数$^2J_{CH}$如图 3-16。带有极性基团取代的烷烃的偶合常数$^2J_{CH}$受取代基的电负性和取代基位置的影响，其偶合常数$^2J_{CH}$值随电负性越大，电负性取代基越多而增加。环烷烃的偶合常数$^2J_{CH}$变化不大。但是单取代的环丙烷的偶合常数$^2J_{CH}$常常出现不规则的变化，其主要原因可能是在环丙烷中偶合常数$^2J_{CH}$与偶合常数$^3J_{CH}$两种机制同时存在的缘故。

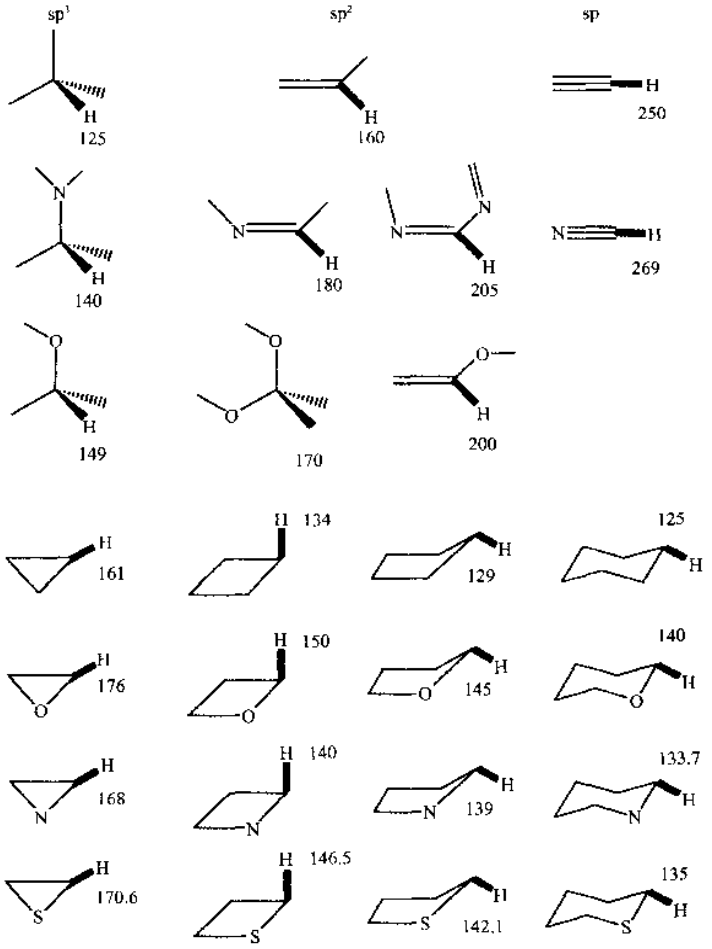


图 3-10　电负性对 C,H 直接偶合常数$^1J_{CH}$(Hz)的影响

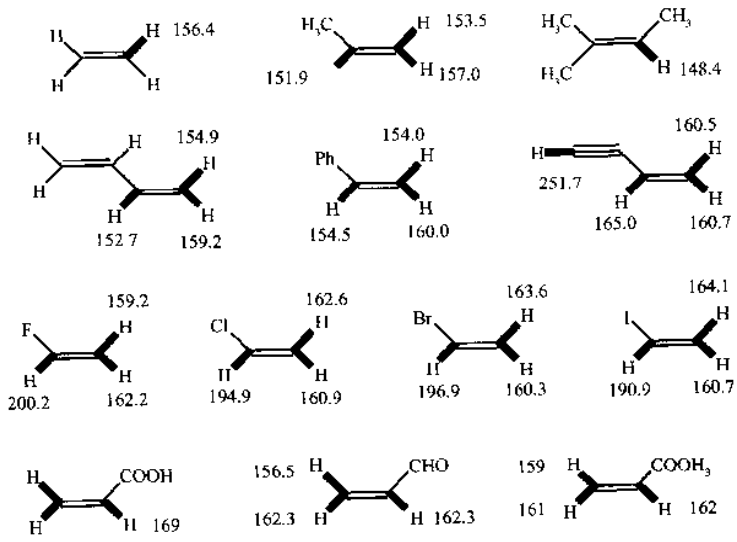


图 3-11　烯烃、取代烯烃和环烯烃的偶合常数$^1J_{CH}$(Hz)

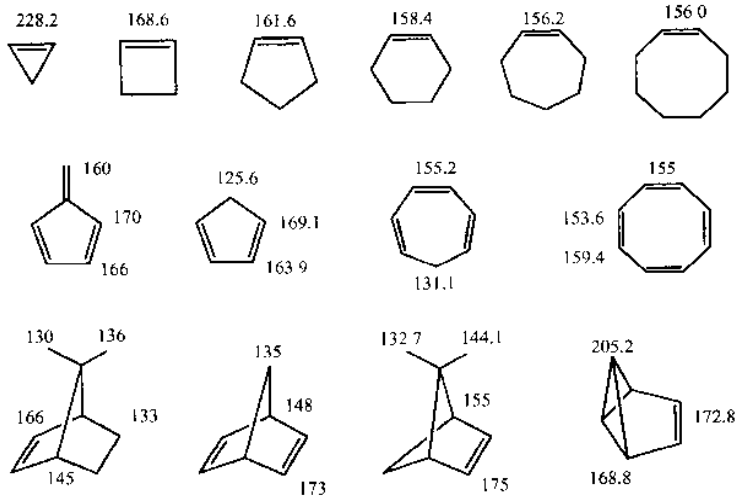


图 3-11(续)

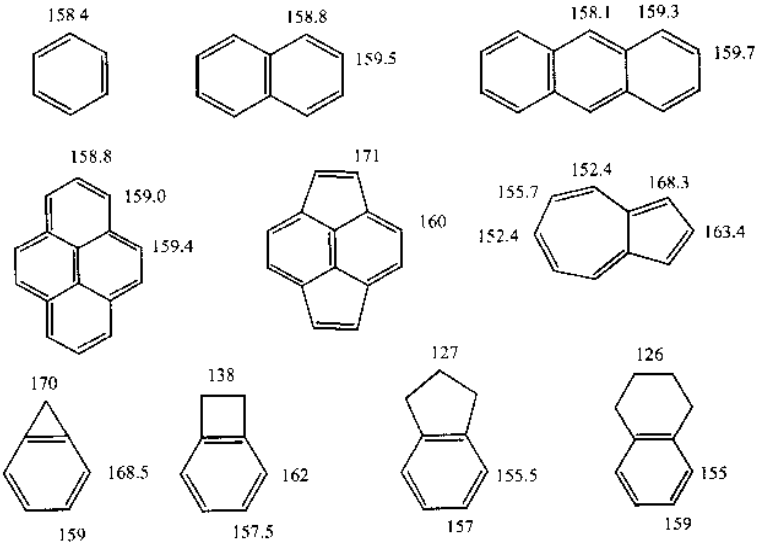
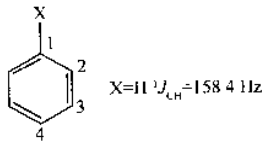


图 3-12 苯并类芳香化合物的偶合常数$^1J_{CH}$(Hz)



X	2 位	3 位	4 位
CH_3	155.9	157.6	158.8
CN	165.3	163.7	162.4
CHO	161.0	161.9	162.4
NH_2	156.0	156.9	160.5
NO_2	168.1	165.1	162.8
OCH_3	158.5	158.4	160.4
I	165.6	161.3	161.0
Br	165.7	161.5	161.3
Cl	164.9	161.4	161.4
F	162.6	161.1	161.4

图 3-13 单取代苯衍生物的偶合常数$^1J_{CH}$(Hz)

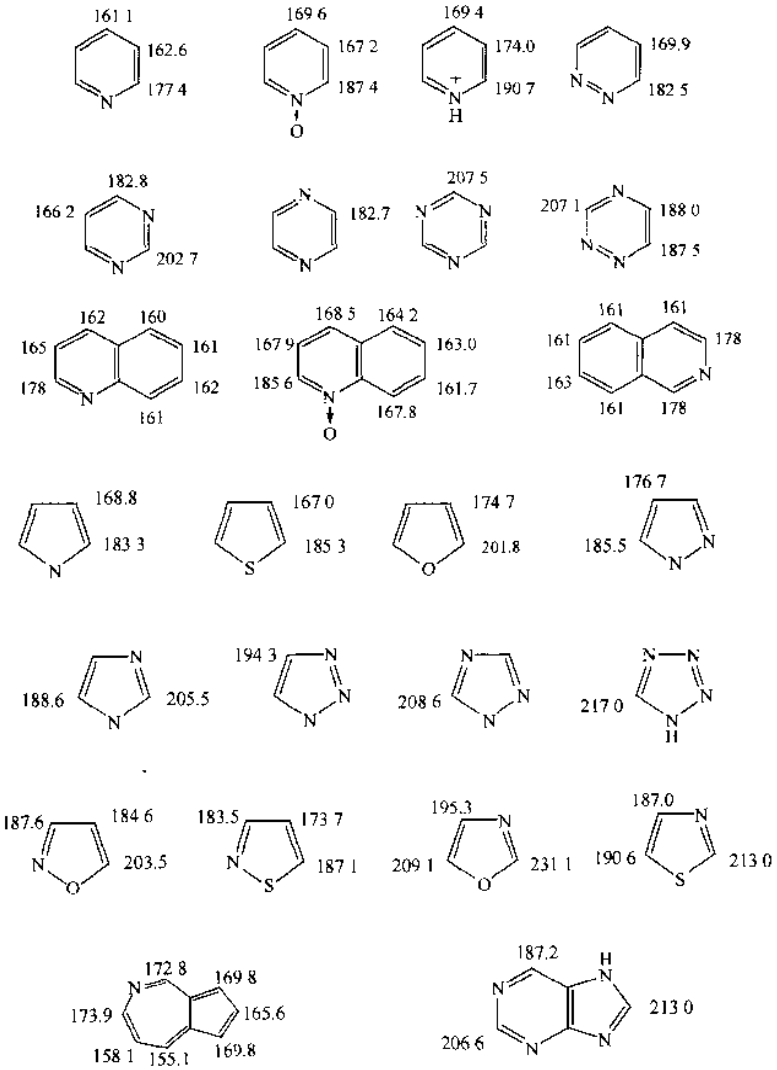


图 3-14　典型的杂环芳烃的偶合常数$^1J_{CH}$(Hz)

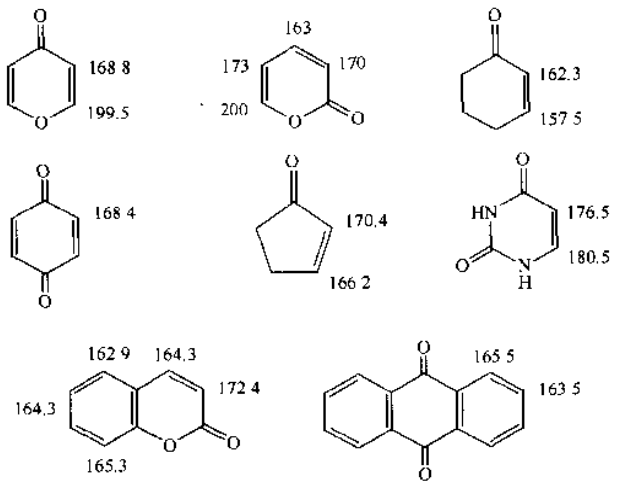
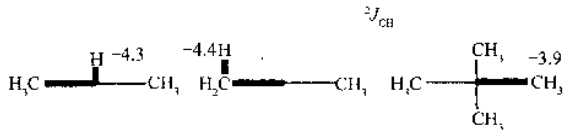
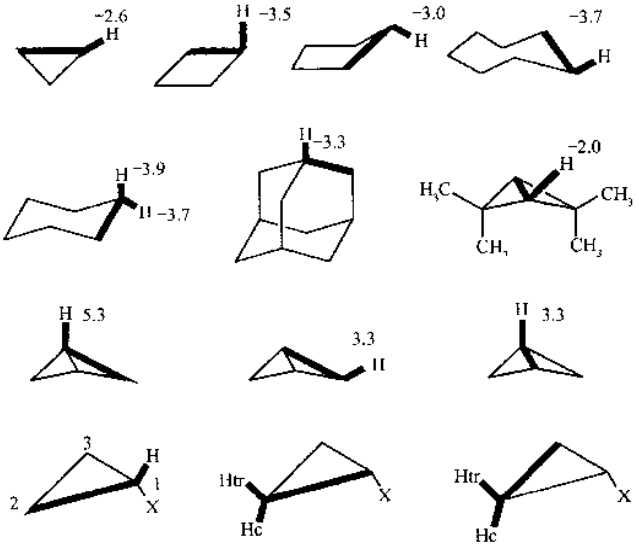


图 3-15　某些不饱和环状化合物的偶合常数$^1J_{CH}$(Hz)



X	CH_3	NH_2	OH	I	Br	Cl	F
CH_3CH_2X	−4.3	−2.9	−2.2	−2.8	−2.7	−2.9	−1.9
CH_3CH_2X	−4.4	4.4	−4.6	−4.9	−4.6	−4.5	−4.6



X	$^2J_{C1H}$	$^2J_{C1Hc}$	$^2J_{C1Htr}$	$^2J_{C2Hc}$	$^2J_{C2Htr}$
H	−2.6	−2.6	−2.6	−2.6	−2.6
NH_2	+0.7	−4.0	−1.0	−2.7	−2.9
Cl	−0.6	−5.1	−1.2	−2.8	−3.1
Br	−0.8	−5.4	−1.6	−2.9	−2.9
I	−1.1	5.5	−2.3	−2.9	−2.9

图 3-16 烷烃、环烷烃及环丙烷衍生物的偶合常数$^2J_{CH}$(Hz)

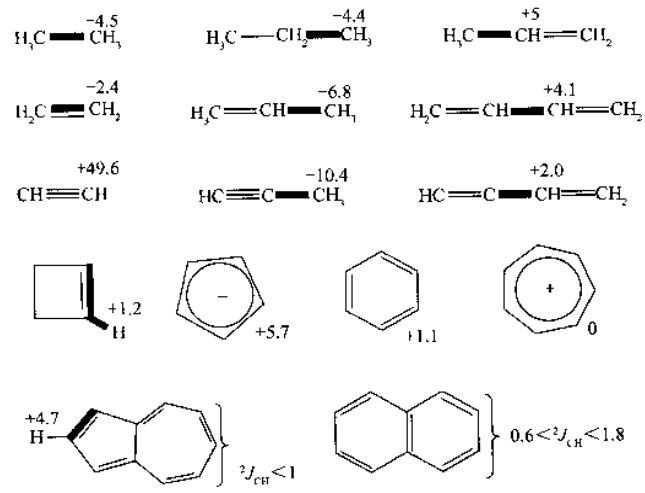


图 3-17 烯烃、芳烃化合物的偶合常数$^2J_{CH}$(Hz)

烯烃、芳烃化合物的偶合常数$^2J_{CH}$如图 3-17。比较图 3-17 的数据可知，质子连接在 sp^3 杂化的 C 原子上的偶合常数$^2J_{CH}$是负的，而质子连接在 sp^2 杂化 C 原子上的偶合常数$^2J_{CH}$是正的。另外，需要特别注意的是，苯环、芳环及其衍生物的偶合常数$^2J_{CH}$很小，因此苯环质子与邻位 C 原子的$^2J_{CH}$相关一般是不可分辨的。

不饱和环状化合物的偶合常数$^2J_{CH}$列于图 3-18。值得注意的是，五元环显示较大的正偶合常数$^2J_{CH}$，而四元、六元和七元环的偶合常数$^2J_{CH}$接近于 0，不论化合物是烯烃、芳烃、烯酮，还是不饱和内酯，这个规律都

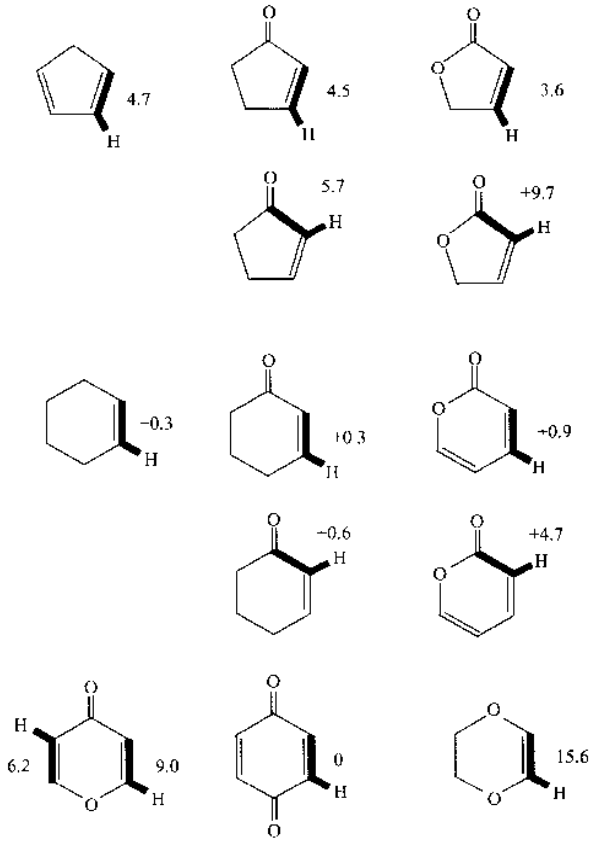


图 3-18　不饱和环状化合物的偶合常数$^2J_{CH}$(Hz)

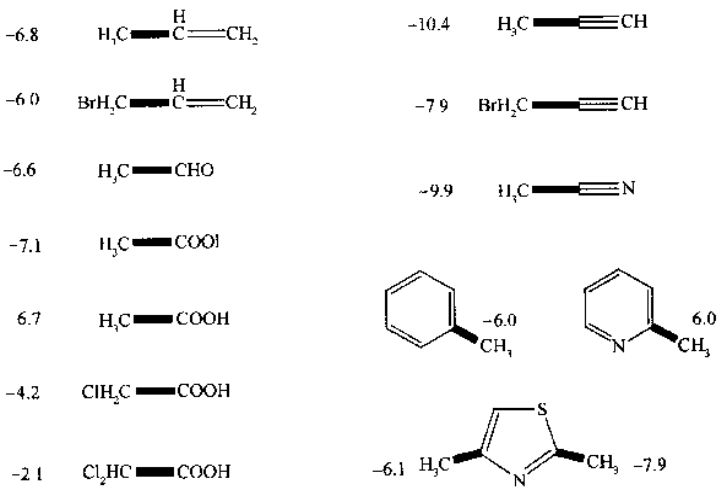
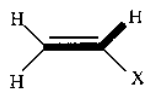


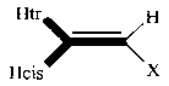
图 3-19　sp^3 杂化 C 上的 H 与 sp^2 或 sp 杂化 C 原子间的偶合常数$^2J_{CH}$(Hz)

成立。当一个连接于 sp^3 杂化 C 原子的 H 与一个 sp^2 杂化或 sp 杂化 C 原子偶合，电负性基团对 α-C 原子的偶合常数 $^2J_{CH}$ 有正的贡献，这对羰基化合物同样适用，如图 3-19。

单取代的乙烯的偶合常数 $^2J_{CH}$ 见图 3-20，取代基的影响是可加和的。其中氰基和炔基产生的负贡献可归结于三键中的 π 电子。二取代和三取代的乙烯显示各单个取代基的加和效应。烯质子通过单键的偶合常数 $^2J_{CH}$ 列于图 3-21。取代芳烃的偶合常数 $^2J_{CH}$ 见图 3-22。

$^2J_{CH}$





X	$^2J_{CH}$	$^2J_{CHcis}$	$^2J_{CHtr}$
H	−2.4	−2.4	−2.4
$SiCH_3$	−6.9	−0.8	−2.5
CH_3	+0.4	−2.6	−1.1
C_6H_5	−1.0	−4.5	0
CCH	+8.8	−3.7	−0.3
CN	−3.7	−4.4	+0.3
CHO	+0.3	−3.4	−0.6
$COCH_3$	−0.3	−3.2	−1.1
COOH	−0.6	−4.6	−0.2
OC_2H_5	+9.7	−5.3	+5.3
$OCOCH_3$	+9.7	−7.9	+7.6
I	+4.0	−7.8	+4.2
Br	+5.8	−8.5	+6.8
Cl	+6.8	−8.3	+7.1

图 3-20 单取代的乙烯的偶合常数 $^2J_{CH}$(Hz)

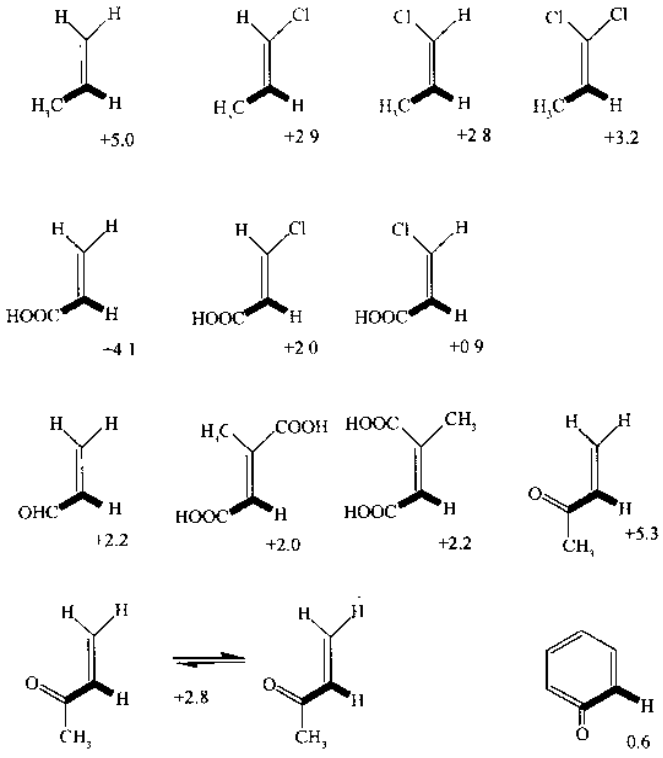
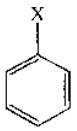


图 3-21 烯质子通过单键的偶合常数 $^2J_{CH}$(Hz)



	$Si(CH_3)_3$	CH_3	Cl	F
$^2J(C_1\text{-}H_2)$	+4.2	0.5	−3.4	−4.9
$^2J(C_2\text{-}H_3)$	+1.4	1.2	1.5	1.1
$^2J(C_3\text{-}H_2)$	+1.6	1.1	0.3	−0.6
$^2J(C_3\text{-}H_4)$	+1.1	1.1	1.6	1.7
$^2J(C_4\text{-}H_3)$	+1.2	1.1	0.9	0.8

图 3-22　取代芳烃的偶合常数$^2J_{CH}$(Hz)

孪生 CH 偶合常数$^2J_{CH}$随 CCH 键角的增加和在该 C 原子上的取代基的电负性降低而变得更正。借此人们可以区分苯环上的不同取代基和杂五元环中的杂原子。杂芳烃和其他不饱和的杂环体系的偶合常数$^2J_{CH}$列于图 3-23。醛基质子和乙炔质子的偶合常数$^2J_{CH}$列于图 3-24，借此人们可以归属醛基的 α-C 原子(25 Hz)和末端乙炔基 C 原子(40～50 Hz)。

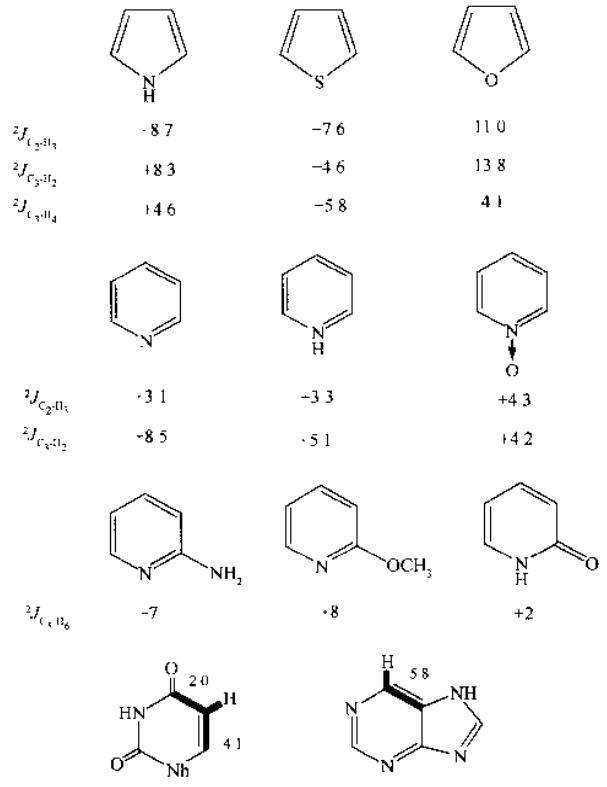


图 3-23　杂芳烃和其他不饱和的杂环体系的偶合常数$^2J_{CH}$(Hz)

对于醇和酚类化合物，通过杂原子的偶合常数$^2J_{CH}$只存在分子内氢键的情况下才观测得到的。某些情况下这些偶合常数是十分重要的，其若干例子收于图 3-25。

3) 邻位^{13}C—^1H 偶合常数($^3J_{CH}$)值在 0～16 Hz 之间，并且其符号总是正的。

邻位^{13}C—^1H 偶合常数与邻位^1H—^1H 偶合常数成比例关系，因此它们具有基本相同的结构效应。以结构片断 H—C_γ—C_β—C_α 为例，影响邻位^{13}C—^1H 偶合常数($^3J_{CH}$)值的因素有五个：H—C_γ 键和 C_β—C_α 键构成的二面角 ϕ；中间键(C_γ—C_β)的键长 r_{cc}；键角 H—C_γ—C_β 和键角 C_γ—C_β—C_α；在各个不同位置存在的取代基；γ-gauche 效应，这些影响因素如图 3-26 所示。

饱和脂肪族化合物的偶合常数$^3J_{CH}$列于图 3-27，最主要的影响因素是二面角。键长对偶合常数$^3J_{CH}$的影响最显著的体现在环状的 π 共轭体系中，其取代甲基的 C 原子与相邻的环质子间的偶合常数$^3J_{CH}$随键长而变化，而且顺式的偶合常数$^3J_{CH}$总是比反式的偶合常数$^3J_{CH}$小，如图 3-28 所示。乙炔类化合物的偶合常

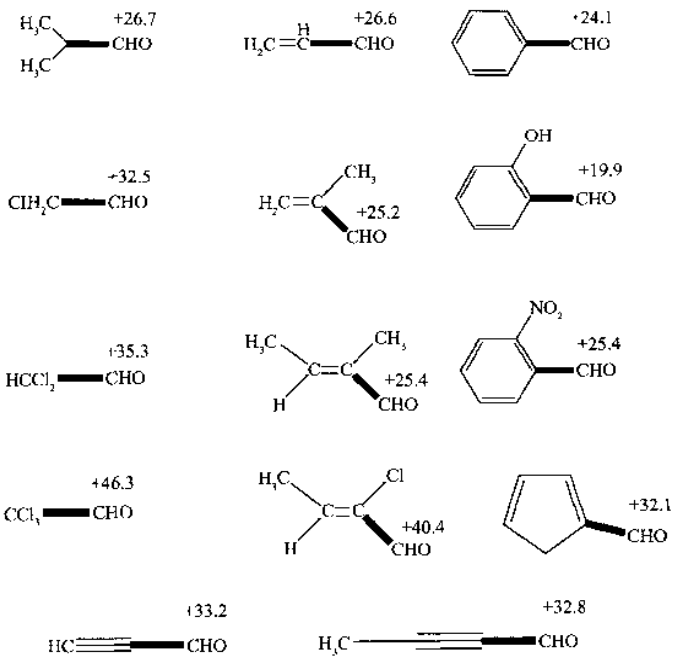


图 3-24 醛基质子和乙炔质子的偶合常数$^2J_{CH}$(Hz)

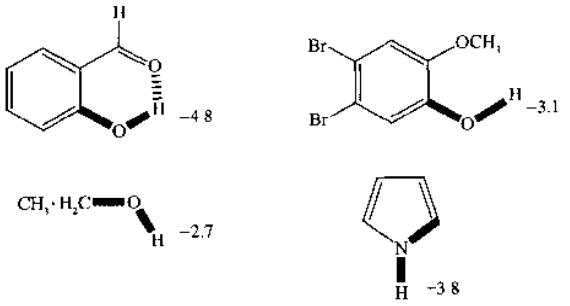


图 3-25 醇和酚类化合物通过杂原子的偶合常数$^2J_{CH}$(Hz)

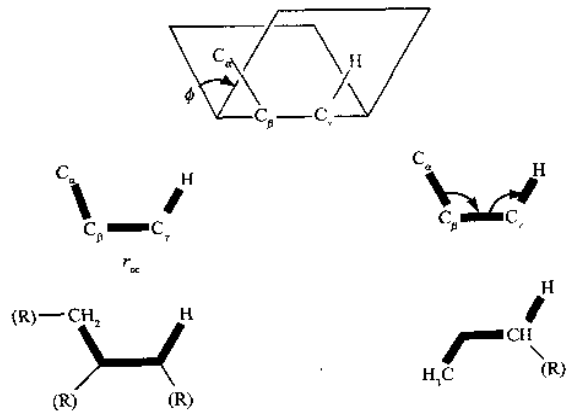
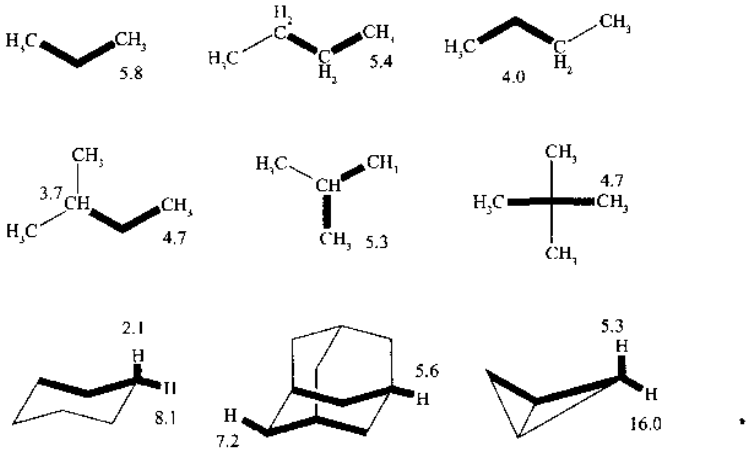


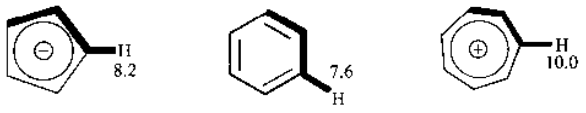
图 3-26 影响邻位^{13}C—^1H偶合常数($^3J_{CH}$)值的因素

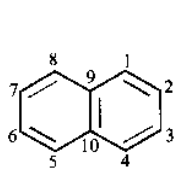
数$^3J_{CH}$比乙烯中通过双键的偶合常数$^3J_{CH}$明显要小，与烷烃类化合物差不多。这与键长没有关系，而是与成键轨道的 s 值有关(图 3-29)。



	$^3J_{cis}$	$^3J_{trans}$	$^3J_{free}$
丙烷	2.5	13	5.8
环己烷	2.1	8.1	
Nitriles	2.5	9	
氨基酸(CO—C_α—C_β—H)	0.4	11.9	
碳水化合物(C—C—C—H)	0~3.3	5~5	

图 3-27　饱和脂肪族化合物的偶合常数$^3J_{CH}$(Hz)





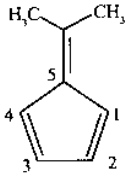
$^3J_{C_{10}-H_1}$=5.9 Hz

$^3J_{C_1-H_3}$=6.7 Hz

$^3J_{C_9-H_2}$=8.1 Hz

$^3J_{C_2-H_4}$=8.4 Hz

$^3J_{C_8-H_1}$=4.9 Hz



$^3J_{C_4-H_1}$=4.9 Hz

$^3J_{C_1-H_3}$=6.0 Hz

$^3J_{C_5-H_2}$=10.1 Hz

$^3J_{C_3-H_1}$=10.6 Hz

图 3-28　键长对偶合常数$^3J_{CH}$的影响

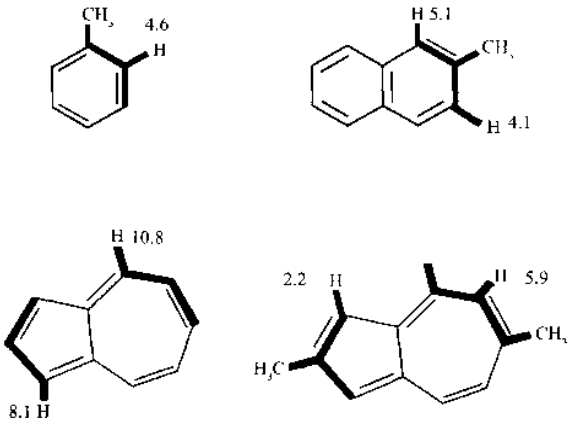


图 3-28(续)

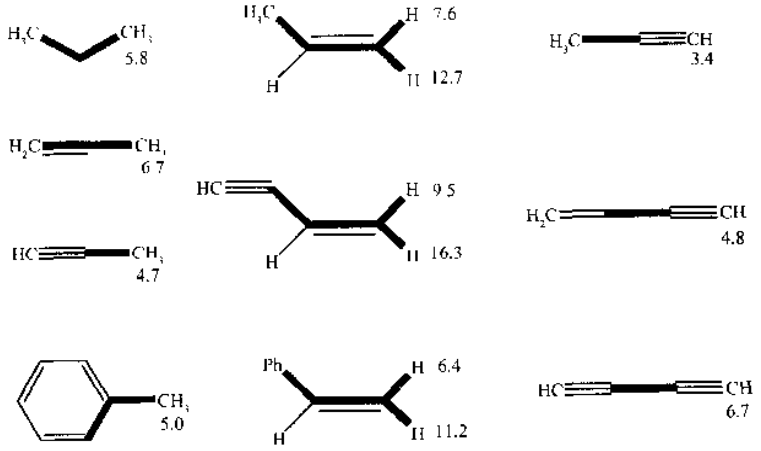


图 3-29 CH 化合物中杂化效应对偶合常数$^3J_{CH}$的影响

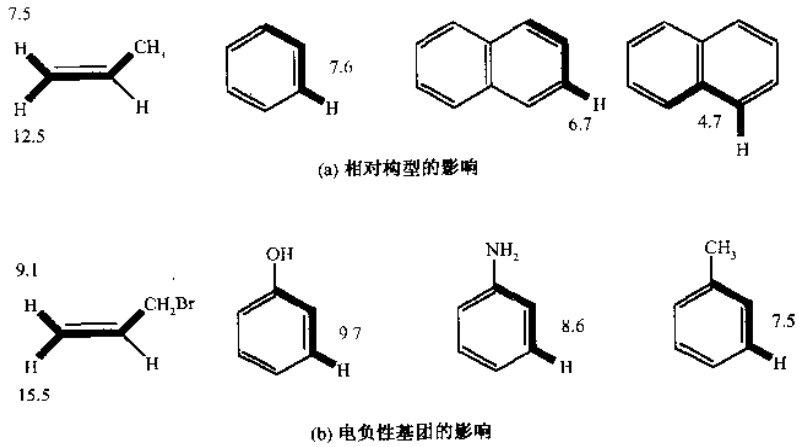
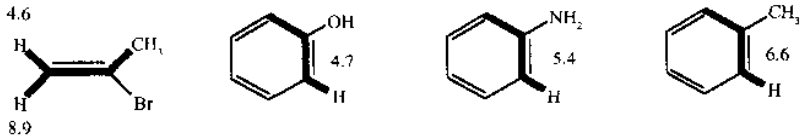
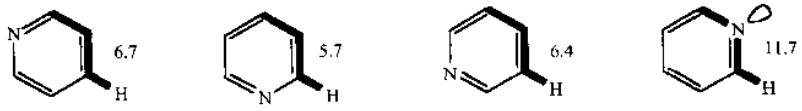


图 3-30 杂化状态、构型和取代基对邻位 CH 偶合常数$^3J_{CH}$的影响



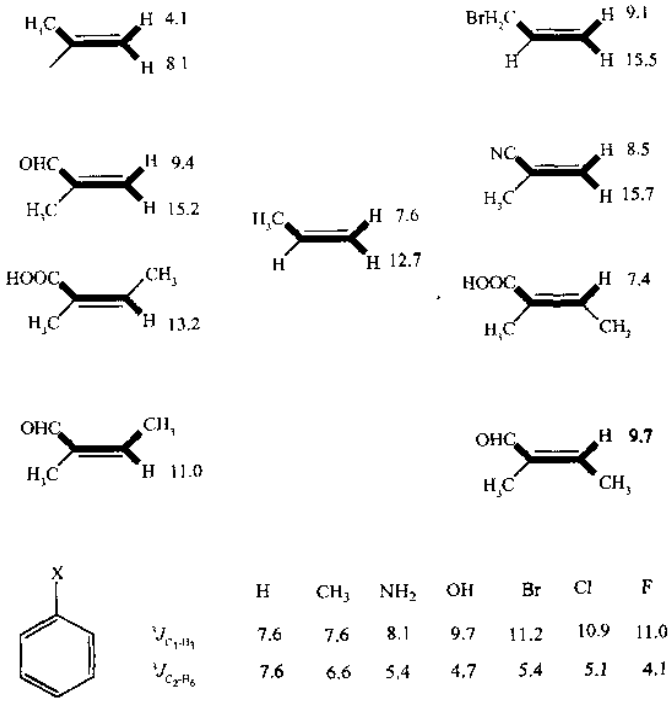
(c) 电负性基团在偶合途中取代



(d) 偶合途中的N上有孤对电子

图 3-30(续)

邻位 CH 偶合常数$^3J_{CH}$不仅取决于偶合 C 和 H 原子的杂化状态和构型，还取决于取代基的性质和位置(图3-30)。在烯烃芳烃化合物中，电负性基团取代在偶合 C 原子上增加偶合常数$^3J_{CH}$，而电负性基团取代在偶合中途 C 原子上降低偶合常数$^3J_{CH}$。偶合途中有亚胺的(如吡啶)其偶合常数$^3J_{CH}$特别大(12 Hz)。极性基团取代的乙烯化合物的偶合常数$^3J_{CH}$和单取代苯的偶合常数$^3J_{CH}$列于图 3-31，杂芳环和不饱和杂环化合物的偶合常数$^3J_{CH}$列于图 3-32。



	H	CH_3	NH_2	OH	Br	Cl	F
$^3J_{C_1-H_1}$	7.6	7.6	8.1	9.7	11.2	10.9	11.0
$^3J_{C_2-H_6}$	7.6	6.6	5.4	4.7	5.4	5.1	4.1

图 3-31　极性基团取代的乙烯化合物和单取代苯的偶合常数$^3J_{CH}$(Hz)

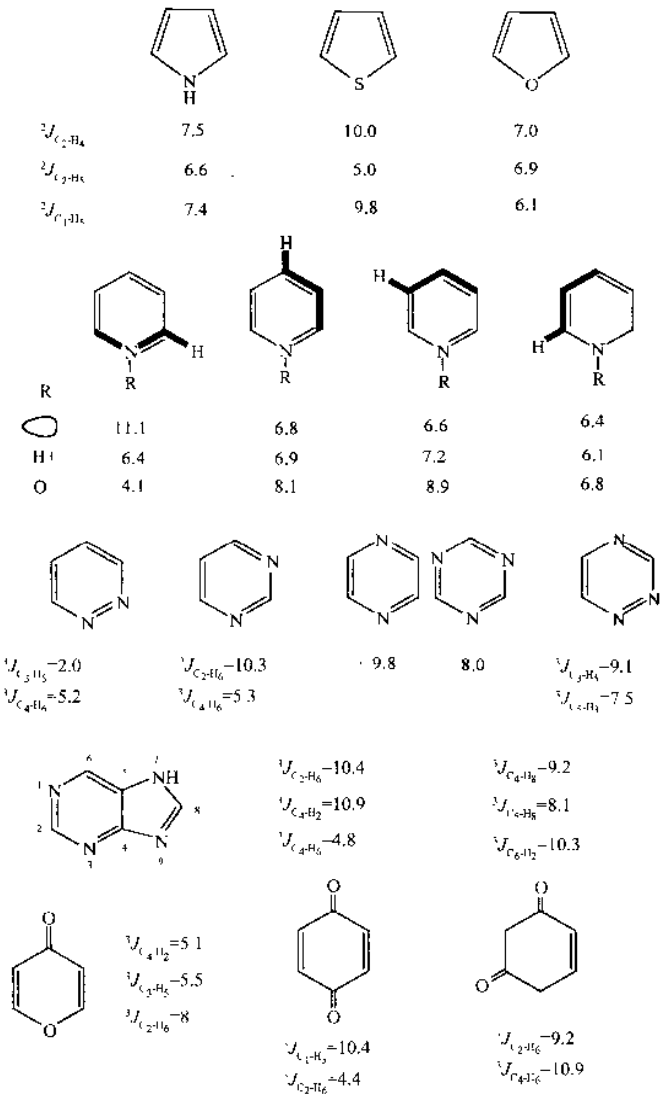


图 3-32 杂芳环和不饱和杂环化合物的偶合常数$^3J_{CH}$(Hz)

透过 O 或 N 等杂原子的 CXCH 的偶合常数$^3J_{CH}$主要取决于二面角。其中 C—O—C—H 片断存在于醚类和酯类化合物中,典型的偶合常数$^3J_{COCH}$列于图 3-33。C—O—C—H 片断也存在于碳水化合物中,其偶合常数$^3J_{CH}$的数据是其构象信息的重要来源,因为通过它可以测定糖残基间的扭转角 ϕ 和 ψ,后文对此还要做进一步的探讨。片断主要存在与多肽、核苷和核苷酸中,也存在于胺和酰胺之中,其偶合常数$^3J_{CH}$见图 3-34。

C—C—X—H 片断的偶合常数$^3J_{CH}$列于图 3-35,它只在有分子内氢键或慢交换的条件下观测到,但是在某些情况下也是非常有用的。

(5) NH 偶合常数

与^{1}H 和^{13}C 相比,^{15}N 的磁矩很小,并且是负值。NH 偶合常数相应地也比较小,并且其符号与 HH 和 CH 偶合常数是相反的。图 3-36 列出了 NH 的偶合常数 J_{NH},它与 N 上的杂化成键轨道的 s 量子数成正比,因此可以明确区分伯胺和亚胺 NH。甲酰胺可根据其大的偶合常数(15 Hz)加以鉴定。吡咯和吡啶的偶合常数$^2J_{NH}$和$^3J_{NH}$尤为特征,它反映了 N 上的非成对电子对的取向(吡咯中与环平面垂直,吡啶中与平面平行),这可用于杂环化合物的结构鉴定。

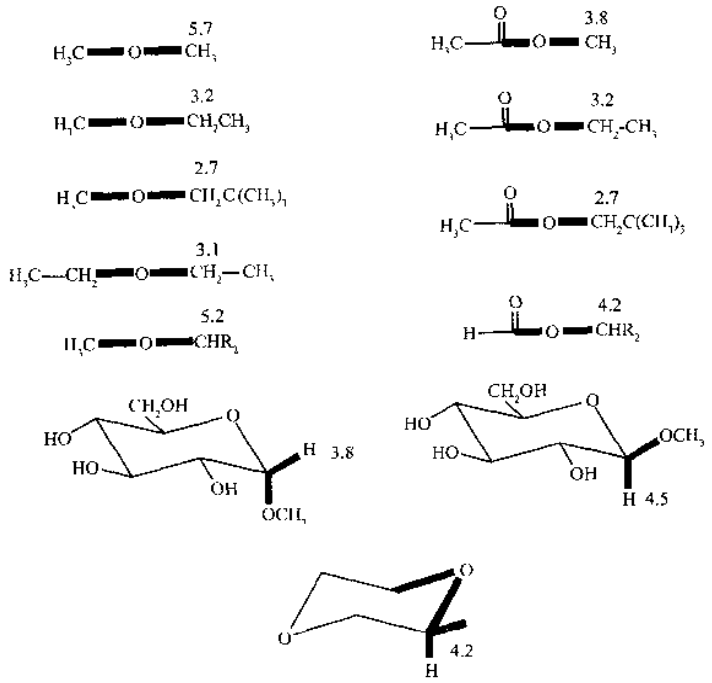


图 3-33　醚类和酯类化合物中典型的偶合常数$^3J_{COCH}$(Hz)

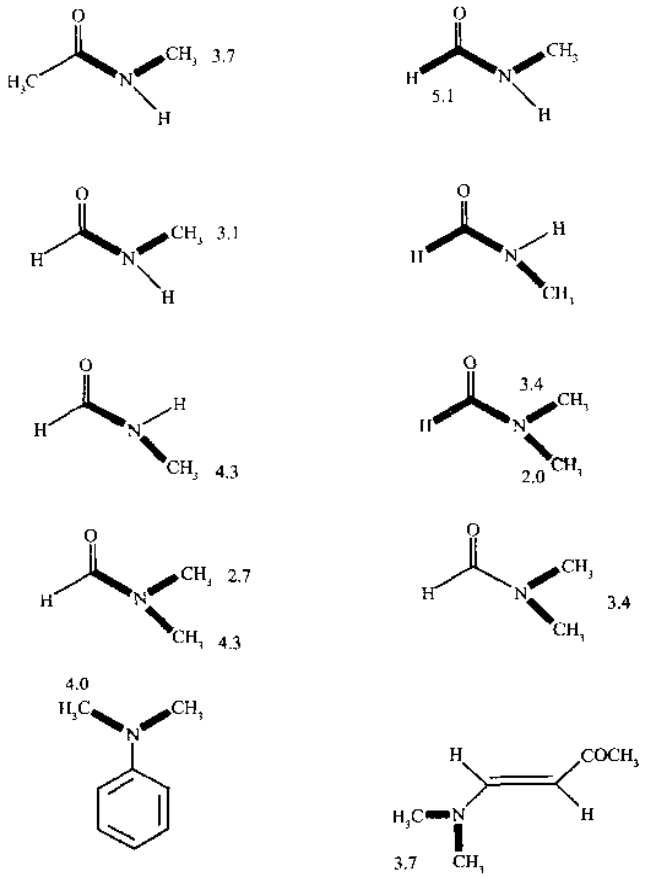


图 3-34　多肽、核苷和核苷酸中典型的偶合常数$^3J_{CNCH}$(Hz)

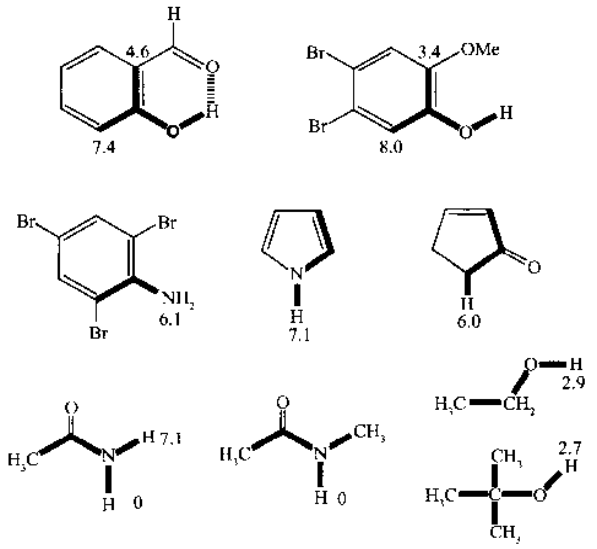


图 3-35 典型的偶合常数$^3J_{COXH}$(Hz)

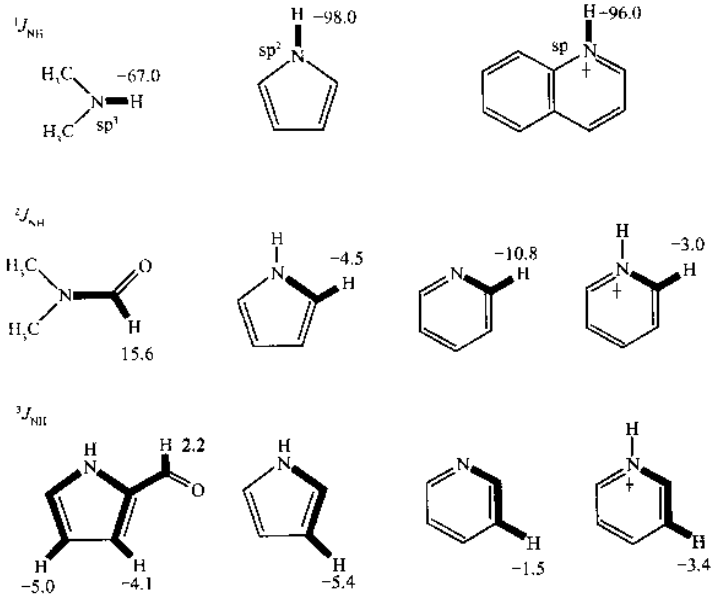


图 3-36 典型的 NH 偶合常数 J_{NH}(Hz)及其结构特征

3. 相对构型与构象

(1) HH 偶合常数

邻位质子间的偶合常数$^3J_{HH}$能够清楚地说明相互偶合质子的相对构型,其关系取决于 Karplus-Conroy 方程:

$$^3J_{HH} = a\cos^2\phi - 0.28 \quad (\phi \leqslant 90°, a = 8.5; \phi \geqslant 90°, a = 9.5)$$

$^3J_{HH}$随二面角 ϕ 的变化情况见 Karplus-Conroy 理论曲线(图 3-37),在偶合路径上有电负性基团的取代会减小$^3J_{HH}$值,因此实验值在两根曲线之间。

对于取代乙烷的稳定构象，*syn* 位质子间的偶合常数 $J_s \approx 3.5$ Hz，*anti* 位质子间 $J_a \approx 14$ Hz(图 3-38)。如果有自由旋转，由于偶合质子通过 *syn* 位两次，*anti* 位一次，因此平均偶合常数：$^3J_{平均} = (2J_s + J_a)/3 = 21/3 = 7$ Hz，这个偶合常数表明，该烷基的构象是自由旋转的。如果乙烷上有大的取代基，分子的自由旋转就会受阻。例如，二溴二氢肉桂酸乙酯通过绕 C—C 单键旋转能够生成三个稳定构象。

图 3-39 列出刚性分子的偶合常数 $^3J_{HH}$，它佐证了 Karplus-Conroy 方程。例如，环丙烷的 $^3J_{HH(cis)} > {}^3J_{HH(trans)}$。因为顺式环丙烷质子间的二面角为 0，反式环丙烷质子间的二面角为 145。环丁烷、环戊烷、原冰片烷和原冰片烯的行为十分类似，顺式、*endo-endo* 和 *exo-exo* 质子间偶合常数大，反式质子间偶合常数小。

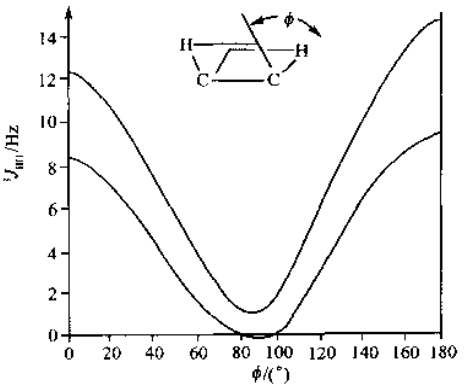


图 3-37　Karplus-Conroy 理论曲线

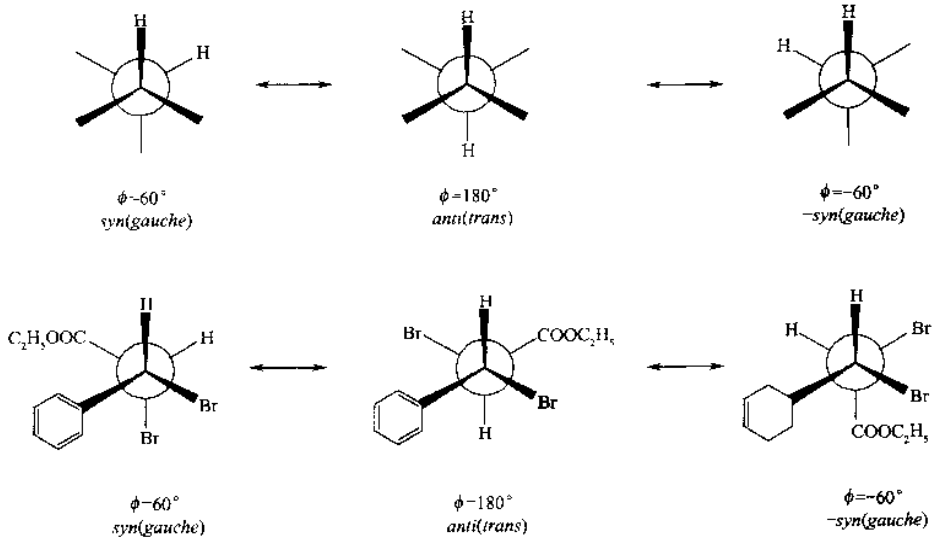


图 3-38　取代乙烷的稳定构象

在四元、五元和七元环体系中，取代基效应(电负性和构型)影响偶合常数，有时会有相反的顺-反关系，所以需要采用其他 NMR 方法，包括 NOE 差谱才能得出结论。环己烷及其杂环类似物以及乙烯基中偶合常数是特别富有结构信息的。在环己烷中，反向平行的相邻质子很清楚地可以由大的偶合常数($^3J_{aa} \approx 11 \sim 13$ Hz)加以鉴定。二双平键或竖-平键构型的质子间偶合常数比较小($^3J_{ae} \approx {}^3J_{ee} \approx 2 \sim 4$ Hz)。在氧杂环己烷类似物中，如吡喃糖环结构中有类似的关系，只是电负性的氧原子降低了偶合常数的值($^3J_{ae} \approx 4$ Hz，$^3J_{aa} \approx 9$ Hz)。这些关系可以用于解析取代环己烷、环己烯、萜类、黄酮和糖的构型。在这些体系中，偶合常数 $^3J_{HH}$ 既反映质子的相对构型，也揭示了六元环的构象。因此，甲基吡喃葡萄糖 1,2 位质子间的偶合常数 9 Hz，比较确定了偶合质子间的双竖键构型，并且揭示了吡喃糖具有 $^4C_1$ 构象(图 3-40)。如果是以更拥挤的 $^1C_4$ 构象存在，那么 1-H 2-H 之间会观测到双平键偶合常数(4 Hz)。如果构象体反转(构象异构体 $^1C_4$ 和 $^4C_1$ 各半)，那么其偶合常数会是二者的平均(6.5 Hz)。

1,2-二取代乙烯基中，顺式质子间的偶合常数为 6～12 Hz(二面角 0°)，反式质子间偶合常数为 12～17 Hz(二面角为 180°)，因此也符合 Karplus-Conroy 方程。一些典型的例子如图 3-41。

(2) CH 偶合常数

某些类型化合物的偶合常数 $^1J_{CH}$ 显示立体化学效应，特别是环烷烃和多环烷烃。一些是受 π 轨道取向

的影响;另一些可能是受分子内孤对电子的影响。典型的例子列于图 3-42,其中具有$^4C_1$构象的吡喃糖异头 C 原子的偶合常数$^1J_{CH}$特别具有诊断价值,其 α 构型的偶合常数$^1J_{CH}$比 β 构型的大 10 Hz 左右。当两种异头 C 构型的数据都可得到时,凭此便可以明确无误地确定糖苷键的构型。

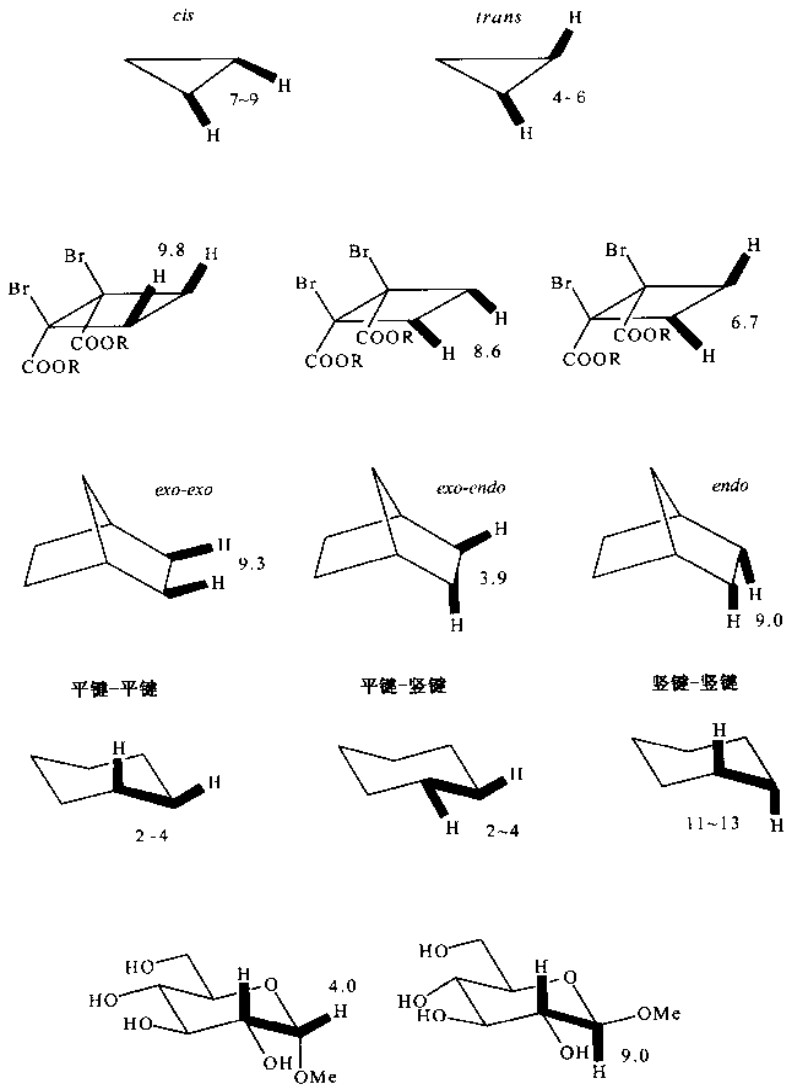


图 3-39 刚性分子的偶合常数$^3J_{HH}$(Hz)

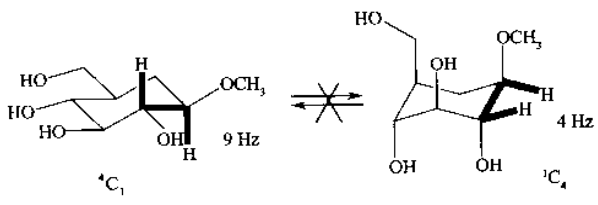


图 3-40 氧杂环己烷类似物中不同构象中的偶合常数$^3J_{HH}$(Hz)

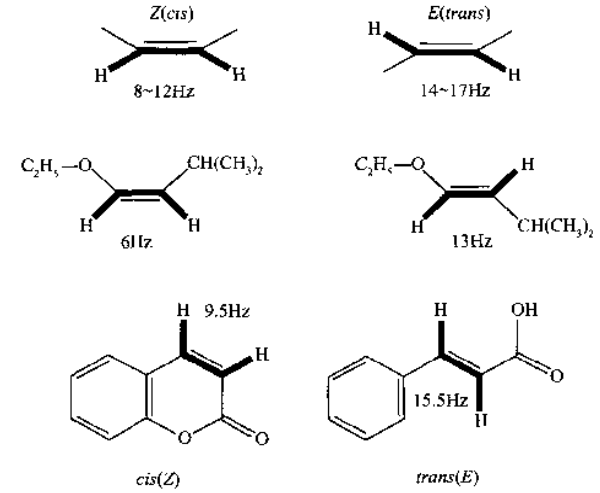


图 3-41　1,2 二取代乙烯基中烯质子间的偶合常数

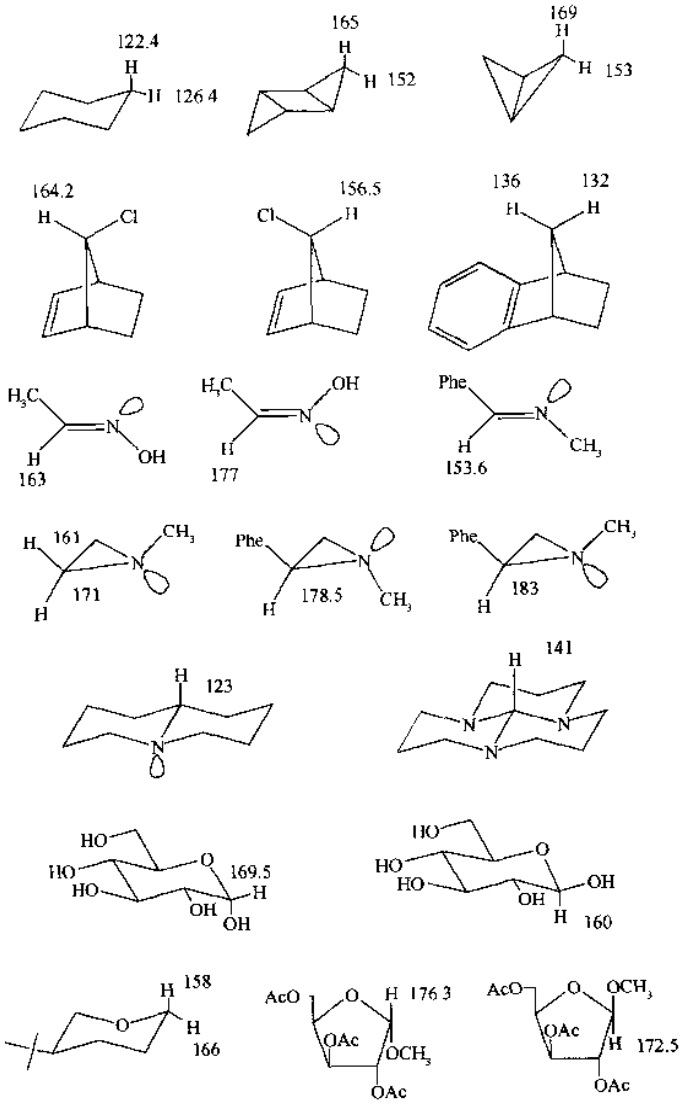


图 3-42　一些可用于确定构型的偶合常数$^1J_{CH}$(Hz)

对于明确几何关系的分子，如吡喃糖、孪生 CH 的偶合常数$^2J_{CH}$有立体化学效应，可以用来表征分子中电负性基团的构型。如果电负性取代基在偶合质子的顺式，其$^2J_{CH}$是负的，并且值比较大；如果电负性基团取代在反式，其$^2J_{CH}$是正的，数值比较小。以 β-D 葡萄糖和 β-D 甘露糖为例，在 H—C_1—C_2—H 片断中，氧原子的取向对偶合常数$^2J_{CH}$有明显的影响。在 β-D 葡萄糖中，偶合常数$^2J_{C2,H1}$为 −5.7 Hz，而在 α 构型的异构体中，相应的值小于 1 Hz。如 Newman 投影式显示的，在 δ-D 葡萄糖中 C_1—O_1 和 C_2—H_2 键是 gauche 构型，而在 α 构型的异构体中它们是处于反式构型，构成大的二面角，对$^2J_{CH}$偶合常数有正的贡献(图 3-43)。

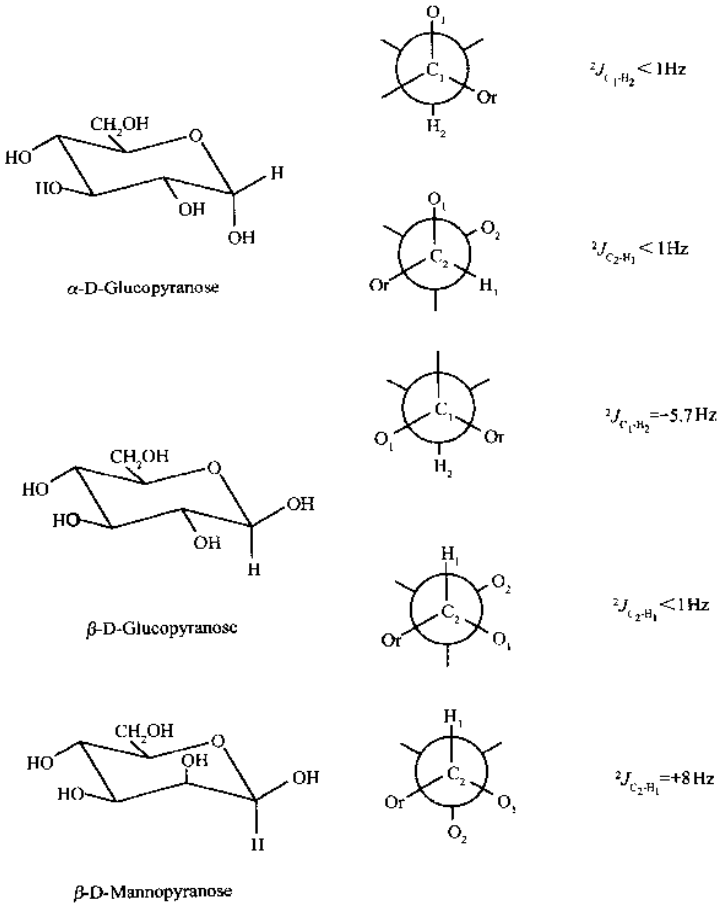


图 3-43 某些可用于解析构型的偶合常数$^2J_{CH}$

相邻 CH 偶合常数$^3J_{CH}$类似于邻位 HH 偶合常数，同样取决于 C—C 键与 C—H 键构成的二面角 ϕ，以 $\cos^2\phi$ 函数关系变化。前面已经说过，同样可以用 Karplus 方程来描述。这可以用丙烷片断的构象异构体的纽曼投影式(图 3-44)来说明。如果绕 C—C 键的自由旋转是容许的，其平均偶合常数$^3J_{CH}=(2J_{syn}+J_{anti})/3$

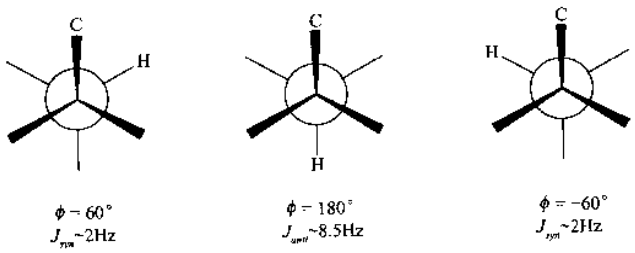


图 3-44 丙烷片断的构象异构体的纽曼投影式

在 4～5 Hz 之间。vicinal CH 偶合常数值($^3J_{CH}$)大约是 vicinal HH 偶合常数($^3J_{HH}$)的 2/3 左右。

在环己烷、吡喃糖环中，与$^3J_{HH}$偶合类似，偶合常数$^3J_{CH}$能够提供相互偶合的 C 和 H 核相对构型的结论性的信息。在取代环己烷中，CH 偶合双方是顺式的$^3J_{CH}$值是 2～4 Hz，是反式的$^3J_{CH}$值是 8～9 Hz(图3-45)。

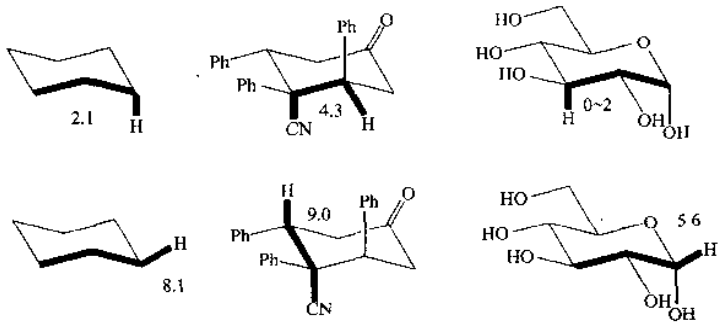


图 3-45

对于乙烯基，任何情况下$^3J_{CH(cis)}<{}^3J_{CH(trans)}$都成立。在偶合 C 原子上有电负性基团取代，会增加 J 值。在偶合途中有电负性基团取代会减小 J 值。此外，$^3J_{CH}$还反映 C 原子键合(杂化)状态和空间位阻(取代基的共平面性)的变化。在推导多取代乙烯基的相对构型时，图 3-46 中所列的$^2J_{CH}$和$^3J_{CH}$数据是非常有用的。

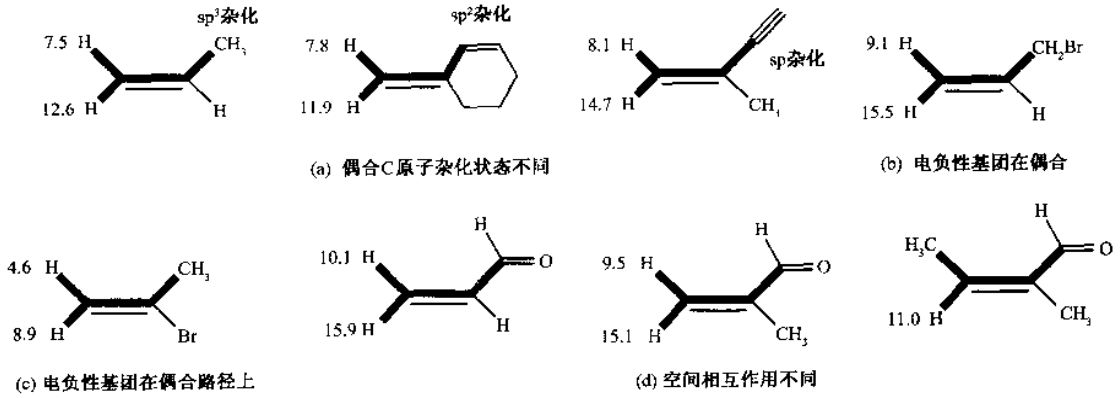


图 3-46　$^3J_{CH}$偶合常数及相对构型

氨基酸和多肽中的 CO—C_α—C_β—H 的偶合常数$^3J_{CH}$对于决定其侧链的构象非常有用。碳水化合物中的跨糖苷键的 C—O—C—H 和 H—C—O—C 的偶合常数$^3J_{CH}$能够为糖苷键的构象二面角 ϕ 和 ψ 提供重要的信息(图 3-47)。

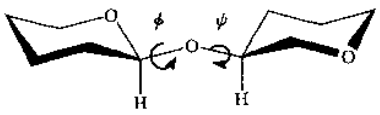


图 3-47　糖苷键的扭转角 ϕ 和 ψ

(3) NH 偶合常数

由于偶合常数$^3J_{NH}$太小(通常小于 5 Hz)，偶合常数$^3J_{NH}$与偶合核之间二面角的关系常常无法像^{1}H 和^{13}C邻位偶合那样用于偶合双方特异性构型的归属；相反，倒是孪生偶合$^2J_{NH}$能够清楚地区分醛胺的相对构

型。反式呋喃 2-aldoxime 显示出比其顺式异构体大得多的$^2J_{NH}$值。显然，在亚胺中，相对于偶合质子的 CH 键顺式的非成键电子对对孪生 NH 偶合产生高的负贡献作用(图 3-48)。

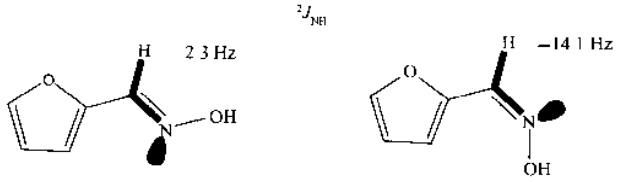


图 3-48 反式呋喃 2-aldoxime 对孪生 NH 偶合的高负贡献作用

(4) ^{13}C 化学位移

烷基中的一个 C 原子会受到 γ 位取代基的屏蔽作用，其化学位移值减小，或者说经受负的取代基效应。它起源于 CH 键的空间的诱导极化，取代基的范德华半径与 γ-位 C 原子上的 H 原子重叠，导致 σ 键上的电子从 H 原子向 γ-C 原子转移，在这个 C 原子上产生较高的电子密度，导致屏蔽作用。如图 3-49 中纽曼投影式所示，γ_{syn}较强而 γ_{anti}较弱，很容易区分。如果存在自由旋转，其化学位移值就平均化，通常按照$(2\gamma_{syn}+\gamma_{anti})/3$，可以观测到 γ-取代基效应，对于烷基典型的值在 $\delta -2.5\sim -3.5$ 之间。

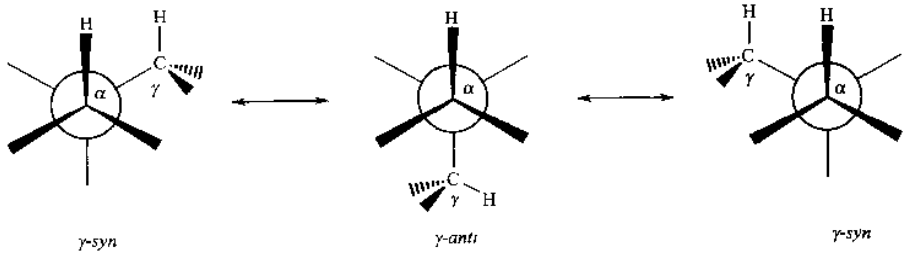


图 3-49 纽曼投影式

在刚性分子中，强的 γ 效应达到 δ 10，足以明确区分顺式和反式的 3-或 4-甲基环己醇。如果 OH 基位于竖键，它对同向的竖键 H 产生范德华力排斥作用，并对这些 γ-H 所接的 C 原子产生屏蔽作用。在环己烷和吡喃糖环中，1,3 位取代基和 H 原子双竖键屏蔽 C 原子，导致其^{13}C 化学位移要比平键取代基异构体的要小。因此，如果一个分子的构象是确定的话，^{13}C 化学位移能够揭示分子内取代基的相对构型(图 3-50)。此外，显然这些化合物的构象如图 3-51 所示，如果它们取另一种构象，那么 C_1 位的 OH 基将是平键，就会使 1,3,5位的 C 原子的化学位移变大。如果发生环翻转(两种构象异构体各半)，导致其^{13}C 化学位移值取平均值。与^1H 化学位移相比，^{13}C 化学位移对空间效应更敏感，顺式和反式 4-特丁基环己醇的^1H 和^{13}C-NMR 谱的比较就是一个例子。在顺式异构体中，γ 位 CH 由于竖 OH 基产生的通过空间的极化屏蔽 C_1 和 C_3 分别达到 $\delta -5.6$ 和 -4.8，而这种情况的^1H 化学位移只反映出相当小的各向异性效应。

在乙烯基中，对 α-C 原子^{13}C 化学位移的 γ-取代基效应也能够明显区分 *E* 式和 *Z* 式构型。α-C 原子的化学位移可以清楚地用来区分双键构型的改变，顺式烷基彼此处于 γ-位，其二面角为 0，彼此相互重叠，导致强力的范德华力相互作用，产生极强的屏蔽作用，因此，所有乙烯基的 α-C 原子都是 $\delta_{trans}>\delta_{cis}$。

在 α-、β-不饱和羰基化合物中，如果其 C═C 双键与羰基共平面的话，其^{13}C 化学位移值都比较小。如果由于空间阻碍，妨碍其共平面性，则其共轭作用减弱，其^{13}C 化学位移值比较大。在苯基酮和苯甲酸衍生物中，羰基双键与分子其余部分呈扭转状态，其羰基的化学位移随扭转角而改变，因此可以根据^{13}C 化学位移来推测其构象，见图 3-52 中 的若干苯甲酸酯的例子。

(5) NOE 效应

当两个质子 H_A 和 H_B 在空间非常接近时，对 H_A 做饱和照射时，H_B 的信号强度会增加，这种现象称为

NOE 效应。在^{1}H-NMR 实验中，通过照射一个质子信号，其空间相邻的质子信号会增强，尽管它们并非通过键相互偶合，表明该质子空间上与被照射质子靠近，而不管它与被照射质子相隔的键数有多少。它与分子运动性和偶极弛豫过程有关，随质子在不同能级的分布变化，其信号强度相应地变化。在质子去偶的^{13}C-NMR 谱中，NOE-能够增加 H 所接 C 原子的信号强度可达 200%。几乎所有^{13}C-NMR 实验中，都运用这种技术来

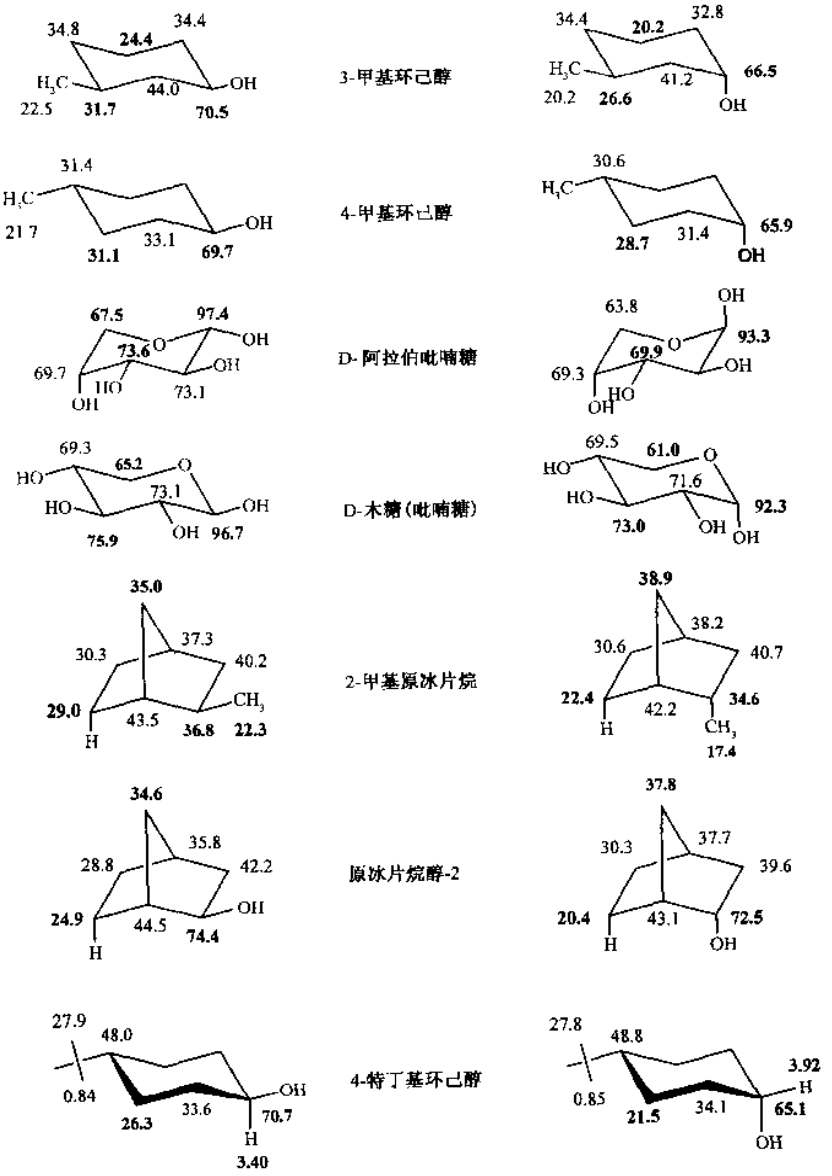


图 3-50　环烷烃、吡喃糖的^{13}C 化学位移与相对构型

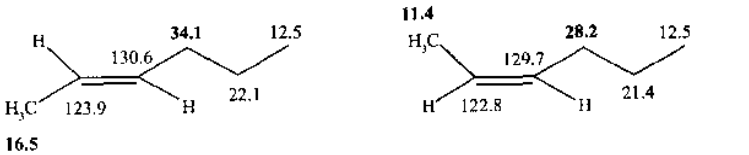
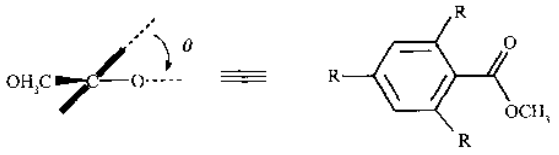


图 3-51　乙烯基化合物的^{13}C 化学位移与相对构型

增强^{13}C-NMR 信号。质子与质子间的 NOE 信号增强的幅度远远小于 50%。如果使用 100 兆周以下的谱仪,受积分误差的研制,只有 5%以上的 NOE 才能够检测得到。如果采用傅里叶变换的高分辨 NMR 谱仪,NOE 的检测变得容易,1%以下的 NOE 强度变化也是可能的。



R	$\delta_{(C_2)}$	θ
H	166.9	0°
CH_3	170.4	49°
$CH(CH_3)_2$	171.3	57°
$C(CH_3)_3$	173.1	90°

图 3-52 α-、β-不饱和羰基化合物中羰基的化学位移与扭转角的关系

NOE 效应在相对构型的归属中是非常有用的。NOE 差谱是研究分子中质子空间相互接近的最有效的方法。先记录一个在某一位置去偶照射的^{1}H 谱,再选择一个远离照射位点的地方用相同的条件记录去偶^{1}H 谱,二谱相减,达到差谱。在差谱中,只有信号强度增加(正 NOE 信号)或减小(负 NOE 信号)的信号被保留。根据这些信号可以揭示相关的质子在空间上是相互靠近的。图 3-53 是化合物 β-ionone 的 NOE 差谱,

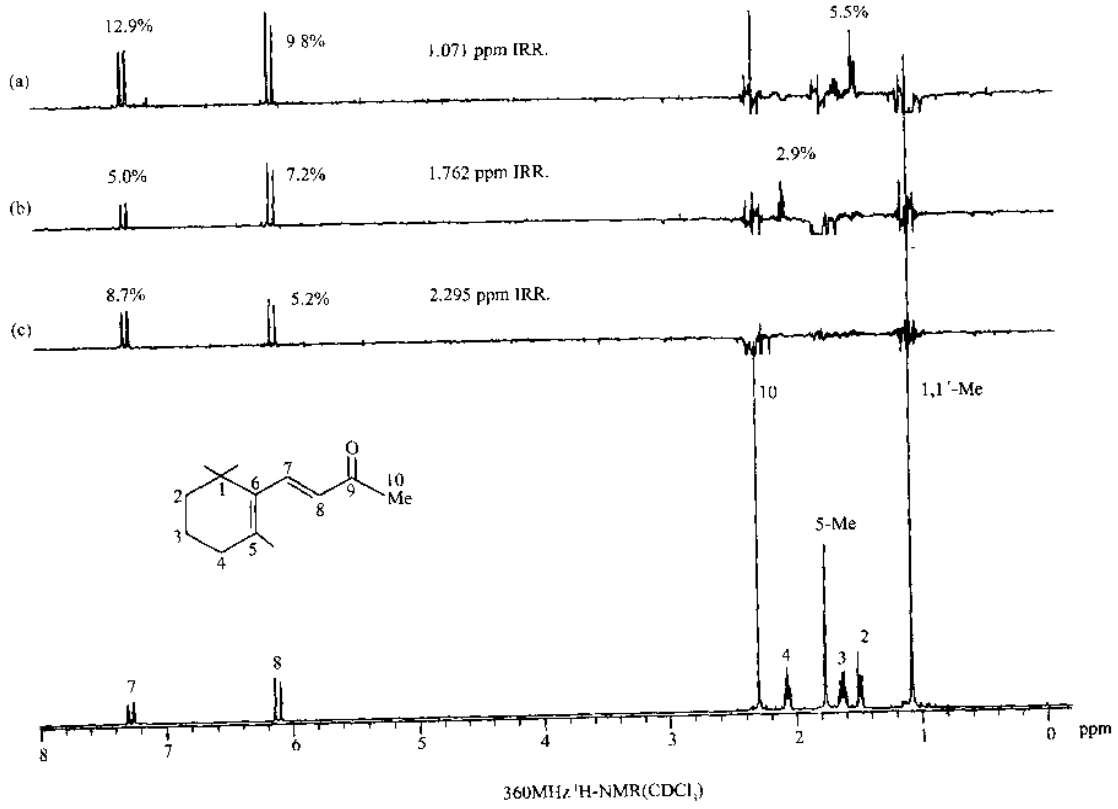
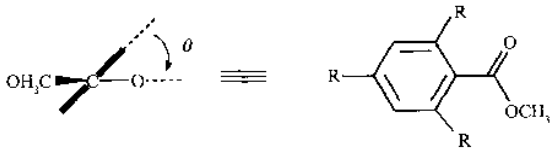


图 3-53 化合物的 NOE 差谱

增强^{13}C-NMR 信号。质子与质子间的 NOE 信号增强的幅度远远小于 50%。如果使用 100 兆周以下的谱仪,受积分误差的研制,只有 5%以上的 NOE 才能够检测得到。如果采用傅里叶变换的高分辨 NMR 谱仪,NOE 的检测变得容易,1%以下的 NOE 强度变化也是可能的。



R	$\delta_{(C_2)}$	θ
H	166.9	0°
CH_3	170.4	49°
$CH(CH_3)_2$	171.3	57°
$C(CH_3)_3$	173.1	90°

图 3-52 α-、β-不饱和羰基化合物中羰基的化学位移与扭转角的关系

NOE 效应在相对构型的归属中是非常有用的。NOE 差谱是研究分子中质子空间相互接近的最有效的方法。先记录一个在某一位置去偶照射的^{1}H 谱,再选择一个远离照射位点的地方用相同的条件记录去偶^{1}H 谱,二谱相减,达到差谱。在差谱中,只有信号强度增加(正 NOE 信号)或减小(负 NOE 信号)的信号被保留。根据这些信号可以揭示相关的质子在空间上是相互靠近的。图 3-53 是化合物 β-ionone 的 NOE 差谱,

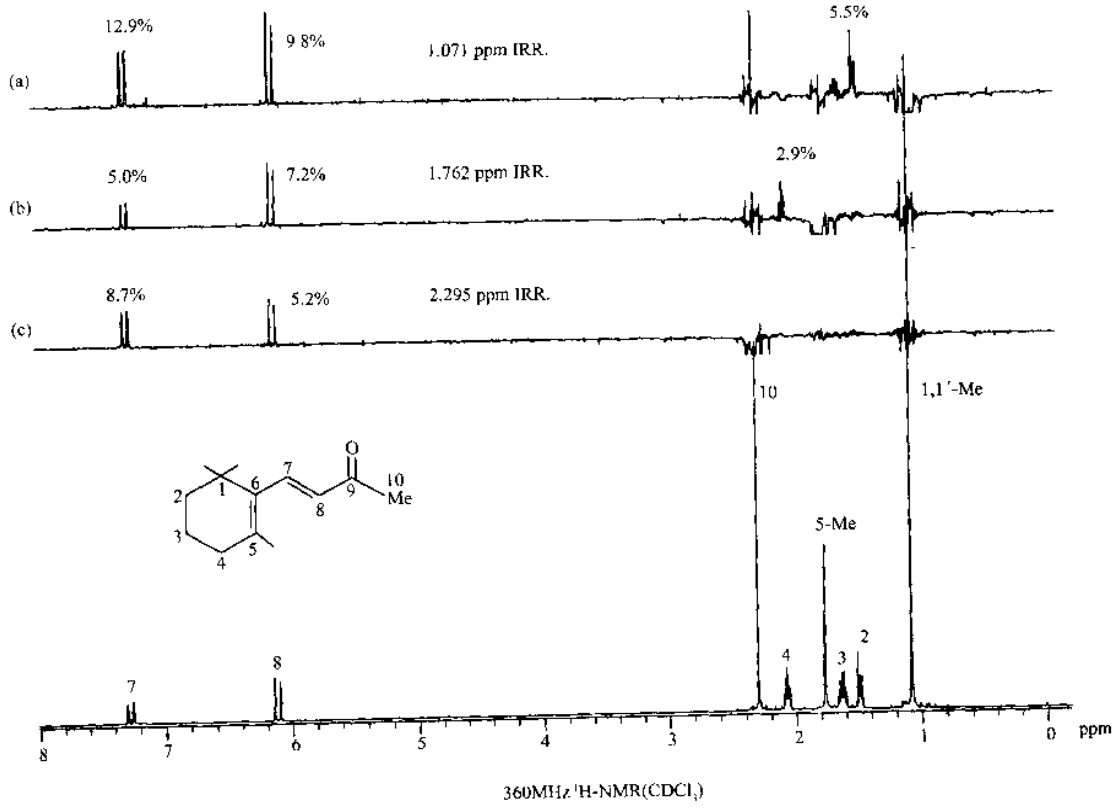


图 3-53 化合物的 NOE 差谱

结构测定本质的某些方面。

那么，为什么2D-NMR对于结构解析特别成功呢？传统的NMR方法测定结构主要借助于化学位移δ，它包含有核化学环境的直接信息。在NMR技术应用的早期阶段是特别强调δ的重要性，常常把从未知物观测到的δ值与某一结构的标准数据，通过表或经验规则加以比较，并以此做出推测或判断。如果仅仅利用化学位移的信息进行结构解析，这一技术就失去了其真正的价值。在天然产物的结构解析中δ并不是NMR最重要的性质，因为它只是在结构解析的第一、三阶段发挥作用（表明某些结构单元的存在、帮助或通过与已知结构的数据相比较以判断是否相符），而对于结构测定的第二个阶段（片断或部分构造的装配）则没有明显的贡献。

NMR技术确实包含有能解决第二阶段难题的信息，并且NMR在这方面是特别富有信息的。2D-NMR方法用于结构解析第二阶段的优势在于：它们能够提供组成分子的各种核之间的相关（correlation）与连接（connectivity）。如前所述，几乎所有的2D-NMR实验都包含核与核之间的相关，不管是同核偶合、异核偶合、NOE，还是别的什么相关，都能够通过它们把分子片段直接地、毫不含糊地连接起来，通过分子片段的组装就能够直接得到后补结构。

当然，2D-NMR方法对结构测定的第三阶段也能做出重要的贡献。因为排除后补结构、确立正确结构的过程是通过NMR共振信号的完全归属而实现的，而这种NMR共振信号的完全归属能够在解析2D-NMR谱波数据的过程中自然而然地得到。

1．最基本的2D-NMR实验方法

（1）H,H-COSY（质子间孪生、邻位和远程偶合相关）

H,H-COSY是一种最简单的二维NMR实验，它关联分子中偶合质子的化学位移。在此二维谱中，两个频率轴都以质子的化学位移作图，因此谱图是方形对称的。其一维^{1}H-NMR谱的投影出现于对角线上（称对角峰或对角信号）。对角线以外信号称交叉峰或相关信号，它们处于^{1}H-1D-NMR信号的水平和垂直连线的交叉点上，表明对应的两个质子间相互自旋耦合。因此，H,H-COSY谱图揭示的是质子与质子间的自旋偶合关系。它在结构测定中可以替代自旋去偶实验，快速确定分子中质子与质子间通过化学键的偶合关系，包括质子间孪生（$^2J_{HH}$）、邻位（$^3J_{HH}$）或远程如烯丙位和W形（$^4J_{HH}$）的偶合。

H,H-COSY谱图可按堆笺作图，显示为三维图形，信号强度以峰高表达在第三维。这种表达方式由于透视关系，容易产生信号畸变和重叠，也不便于作图和分析，实际使用中很少采用。另一种形式是等高线作图，信号强度以一系列同心圆表示，有些类似于军事地图。等高线作图显示明了，有利于谱图分析。但是截面高度的选择可能会影响其提供的信息，截面选择过高，相关信号就弱甚至消失，如果截面选择过低，就会出现假峰和噪声信号，干扰正常的谱图分析。实用中常常选择适当的等高线作图，以得到包含最多的结构信息和最少的噪声的谱图，或者以不同等高线分别作图，得到多个谱图，相互参考以得到更多的信息，并辨别和剔除假峰和噪声信号。

H,H-COSY技术也有限制，其一，是因为交叉峰的截面图可能并未揭示所包含的耦合是属于孪生（$^2J_{HH}$）、相邻（$^3J_{HH}$）或W形（$^4J_{HH}$）偶合中的那一种。如果不考虑化学位移和可能的偶合常数，解析就不一定能够得到结论性的论点。其二，谱中重叠的信号无法用H,H-COSY分离。如果采用后面要讨论的相敏的双量子滤波的H,H-COSY谱，谱图的数据分辨率又足够高，交叉峰的多重度的精细结构就能加以识别，上述限制就能很大程度上得到克服。

H,H-COSY谱图揭示的是质子间孪生、相邻或远程（W形和烯丙位）质子间的标量偶合，因此，提供的是分子中原子与原子间通过键的连接（connectivity through bond）。它们能够分别提供分子内CH_AH_B（$^2J_{HH}$）、CH—CH（$^3J_{HH}$）和CH—C—CH或CH≡C—CH（$^4J_{HH}$）结构片断的信息。尽管存在着种种限制，由于其灵敏度高，结构信息丰富，通过解析H,H-COSY方法，接H碳骨架结构片断总能够得到解析，加上从其他二维NMR实验得到的互补信息，就得到完整的分子结构，因此，H,H-COSY不失为最为有效、最常用的二维NMR方法。

(2) H,H-NOESY

检测 H,H-COSY 相关的脉冲序列也可以改变为检测质子间偶极相互作用(即 NOE),这样 H,H-COSY 序列就转变为 H,H-NOESY 序列,得到的就是 NOE 信号强度的二维变化。NOESY 谱与 H,H-COSY 谱相像,是方形的。对角线上有对角峰,对角线外显示相关峰,但是相关峰揭示的是质子与质子间在空间的相互接近关系,而非质子与质子通过键的标量偶合。NOESY 谱在天然产物的结构解析中有两方面的功能。首先,利用 NOESY 谱提供的相关信息,也可以把分子中的原子或片断构造连接起来,这种连接称之为通过空间的连接(connectivity through space)。当用 H,H-COSY 谱进行结构解析遇到困难的时候(如相邻质子间二面角接近 90°,偶合常数接近于零或受季 C 原子阻隔),NOESY 谱常常能够提供有用的信息。因此,在天然产物平面结构的解析中,通过空间的连接是对通过键的连接的有力的补充。NOESY 谱更重要的功能是能够通过分子内原子与原子在空间上的相互配置关系,提供有关分子相对立体化学和溶液构象方面的重要信息,是研究分子构型、构象和运动性的重要工具。与前文提到的 NOE 差谱相比,NOESY 谱揭示分子内所有的质子与质子间的通过空间的相互接近,因此效率比较高,特别适宜于具有复杂结构的天然产物分子或生物大分子的研究。此外,NOE 差谱实验一般要求样品进行脱氧处理,才能得到好的结果,而 NOESY 实验的样品一般不必进行脱氧处理。

(3) C,H-COSY

C,H-COSY 通过单键 CH 偶合常数$^1J_{CH}$把一维频率轴上的^{13}C 化学位移与另一维频率轴上的^{1}H 化学位移关联起来。所用的脉冲序列包含^{1}H—^{13}C 极化转移,可提高灵敏度 4 倍。因此 C,H-COSY 一般并不需要比宽带去偶^{13}C-NMR 谱更多的样品。在二维 C,H 相关谱图中^{13}C 化学位移出现在 X 轴,^{1}H 化学位移出现在 Y 轴,交叉峰出现在相应的^{13}C 和^{1}H 信号的垂直和水平连线的交叉点上。提示相应的^{1}H 和^{13}C 核是通过$^1J_{CH}$相互关联的。由于两个轴的频率不同,所以 C,H-COSY 谱图中不出现对角峰。C,H-COSY 谱图的解析十分简单明了,但是所提供的信息非常可贵。首先,它能够提供 C,H 之间通过键的直接连接($^1J_{CH}$),清楚地告诉你在一个 C 原子上连接几个 H 原子,提供了 C 共振信号的多重度的信息。同时揭示出哪个 H 原子连接在哪个 C 原子上,为把质子与质子间的偶合相关信息转变成为 C 原子与 C 原子的连接提供了基础。不仅如此,在具有多环体系的复杂天然产物分子中,一些环上的 CH_2 结构单元其两个质子常常是磁不等价的。这种孪生质子间的$^2J_{HH}$偶合与相邻质子间的$^3J_{HH}$偶合混杂在一起,往往干扰质子偶合体系的分析。C,H-COSY 谱对非等价孪生质子的鉴定提供了有效的手段。此外,由于^{13}C-NMR 信号具有比^{1}H-NMR 信号化学位移散布宽的特点,一些在 1D ^{1}H-NMR 谱图中十分拥挤的区域中的质子信号在 C,H-COSY 谱中随化学位移分布极宽^{13}C-NMR 信号而散布开来,大大简化了^{1}H-NMR 信号的解析。这对于结构十分复杂的天然产物的结构解析和生物大分子溶液三维结构的计算十分有利。还可以采用谱图编辑的手法,选择在相应的^{13}C-NMR 信号的位置作截面,得到相应的^{1}H-NMR 截面图,如果分辨率足够高,甚至可以从截面图得到相应质子信号多重度的精细结构信息。

(4) C,H-COLOC(孪生和相邻的 CH 相关)

C,H-COSY 实验提供了 C,H 通过$^1J_{CH}$偶合的连接,因此,它只适用于解析接 H 的 C 原子,而不适用于解析不接 H 的季碳原子。C,H-COSY 实验的一个变种也可适用于解析季碳原子,就是在 C,H-COSY 实验中把探测的 C,H 偶合常数调节到相当于$^2J_{CH}$和$^3J_{CH}$的比较小的数值(2～25Hz),这个实验简称为 C,H-COLOC(CH Correlation via Long-range Couplings)。这种二维 C,H 相关谱检测 C,H 通过二键($^2J_{CH}$,孪生偶合相关)和三键($^3J_{CH}$,相邻偶合相关)的连接关系,同时抑制 C,H 间通过一键($^1J_{CH}$)的偶合相关。这种谱图的图形和解析方法与 C,H-COSY 十分类似,但是谱图中的交叉峰揭示的不是 C,H 之间隔一键($^1J_{CH}$)的连接,而是隔二键和三键($^2J_{CH}$和$^3J_{CH}$)的连接关系。C,H-COLOC 谱图中对应于季碳原子化学位移的交叉峰提示出与该季碳原子相连接的分子部分构造的信息,如下所示:

$$—C_1H—C_2^*—C_3H—$$

其中，C* 为季碳原子，如果 H_1 显示与 C_2^* 和 C_3 的交叉峰或 H_3 显示与 C_1 和 C_2^* 的交叉峰，可以借此把 C_1、C_2^* 和 C_3 三个 C 原子依次连接起来。因此，这个实验的实质是提供了 C 原子与 C 原子之间的连接。由于接 H 的 C 原子之间的连接可以通过 H,H-COSY(H 与 H 间的偶合)加上 C,H-COSY(C 与 H 间的偶合)得到，所以 C,H-COLOC 实验补充了把季碳原子接入分子骨架的手段，或者说透过季碳原子 C_2^* 把两侧的质子偶合链连接起来的手段，因此是十分可贵的。

不仅如此，C,H-COLOC 实验还为把杂原子 X(X=O,S,N 等)接入分子骨架提供了依据，如下所示：

$$—C_1H—X—C_2H—$$

C_1 与 C_2 通过杂原子相互连接，H_1 与 H_2 之间没有直接偶合关系，分子的两个片断无法连接起来。如果 C,H-COLOC 实验中显示 H_1 与 C_2 或 H_2 与 C_1 隔二键($^3J_{CH}$)的偶合相关峰，我们就可以把—C_1—X—C_2—三个原子连接起来，而且，如果 C_1 与 C_2 中任何一个为季 C 原子，这种偶合关系也同样适用。类似地，这里检测到的隔三键($^3J_{CH}$)的偶合相关峰实质上提供了 C 原子与杂原子之间的连接。其中有关杂原子种类的信息可以从 C_1 和 C_2 两个 C 信号的化学位移以及分子式等方面得到。

这个方法还可以用于更复杂的情况，如两个季碳原子相邻和季碳原子与杂原子相邻，如下所示：

$$—C_1H—C_2^*—C_3^*—C_4H—$$

$$—C_1H—X—C_2^*—C_3H—$$

测定其 C,H-COLOC 波谱，如果 H_1 显示与 C_2^*、C_3^* 的隔二键和隔三键的相关峰，或者 H_4 显示与 C_3^*、C_2^* 的隔二键和隔三键的相关峰，就可以把 C_2^*、C_3^* 两个季碳原子接入复杂骨架。C_2^*、C_3^* 两个信号的归属可分别由更远隔的 H 原子与它们的隔三键($^3J_{CH}$)相关峰而确认。对于第二种情况，类似地，如果 H_1 显示与 C_2^* 的隔二键的相关峰，同时 H_3 显示与 C_2^* 的隔二键的相关峰，就可以把 X 和季碳原子 C_2^* 接入分子骨架。其中杂原子的位置可由 C_1 和 C_2^* 的化学位移来判别。

充分利用 2D-NMR 提供的 C,H 隔二键($^2J_{CH}$，孪生偶合相关)和三键($^3J_{CH}$，邻位偶合相关)的连接关系，把分子中被季碳原子或杂原子隔断的部分构造连接起来是采用近代 2D-NMR 技术解析天然产物结构的核心内容，也是结构解析能否取得成功的关键之一。

综上所述，把 1D-NMR 扩展为 2D-NMR 提供了许多优越性。

首先，几乎所有的 2D-NMR 实验都包含有相关(同核偶合、异核偶合、NOE 或其他)，这些相关信息(correlation)为结构解析的第二阶段，原子或部分构造的连接(connectivity)提供了有力的手段：通过键的连接和提供空间的连接。因此利用 2D-NMR 谱提供的相关信息就能直接地、毫不含糊地把分子的原子或分子片段拼接起来，从而大大提高了解析未知结构的能力。此外，相关信息的解析过程就是连接的过程，也是信号归属的过程。解析过程直观明了，严谨而富于逻辑性，这些构成了 2D-NMR 结构解析的策略基础。

其次，2D-NMR 大大提高了信号的分解能力，使在 1D 谱中相互重叠的信号通过展开为 2D 而得到进一步的分离。如果谱图分辨率足够高，还可以通过谱图编辑(如作截面图)，进一步得到参与偶合相关的核磁共振信号的精细结构。

第三，为共振信号的归属提供了有力的手段，共振信号相关的解析过程也就是波谱数据的归属过程，通过这种解析也就同时完成了数据的归属。共振信号的完全归属是进一步讨论分子的立体化学(包括溶液构象)、研究分子运动性和分子间相互作用的基础。

总之，2D-NMR 与 1D-NMR 相比虽然都是探测分子中核与核在磁场中磁矢量进动的相干关系，但 2D 方法是以更一般、更有效、更富有信息的方法来完成这种探测的，因此能提供许多用 1D-NMR 方法难以得到的结构信息。

不仅如此，2D-NMR 测定中还可以通过改变实验参数，得到所希望的结构信息。例如，在测定的卷积期和检测期增加一定的时间延迟，得到延迟 COSY 谱(Delayed COSY)，从而可以探测到分子中远程偶合关系(^4J_H 和 ^5J_H)，对烯丙位、W 形等远程偶合的检测十分有利。如果在 C,H-COSY 测定中也设置这种时间延迟，便可测得远程异核相关谱(Long Range C,H-COSY，如前述的 COLOC 实验)。如果把测定中的 90°检测脉冲改变为 45°就能得到 β-COSY 谱(又叫 COSY-45)，从该谱图中交叉峰的图形可以决定偶合常数的符号并进一步推断偶合为 ^2J_H 还是 ^3J_H。此外，在测定中通过相位循环方法可以得到包含有相位信息的相敏

COSY 谱，该谱图中的交叉峰会显示出精细裂分的图形，从而得到参与偶合质子的信号裂分形态信息。20 年来，受生物医药领域阐明生物大分子结构和寻求新颖生物活性分子的驱动，波谱学界做出了巨大的努力，新的脉冲序列如雨后春笋般地出现，新的实验方法层出不穷。其中相当一部分新的脉冲序列和实验是对上述基本的 2D-NMR 方法的改良，或提高灵敏度，或增加特异性，或通过利用谱仪硬件的新发展使原本很难完成的实验变得较为容易，使原本检测效率较低的信息高效地检测，使原本难以得到的信息变得容易得到。以下介绍一些与复杂天然产物结构解析相关的 2D-NMR 新技术。

2．改良的 2D-NMR 实验方法

如前所述，除了通过上述基本的 2D-NMR 实验（同核和异核位移相关谱）进行分子片段连接和信号归属之外，还有许多其他的实验方法来微调所能获得的信息，以解决特定的结构问题。此外，要得到一种特定的结构信息，常常有多种 2D-NMR 方法。因此，虽然直接相关实验是首选的手法，还有许多变通手法可供采用，应该选择最佳的 2D-NMR 手法去解决你所要解决的具体结构问题。以下介绍几种在新颖天然产物结构测定中最重要、应用最普遍的 2D-NMR 改良实验方法。

（1）多量子相干测定方法的发展

按照量子力学的原理，核的磁化相干作用不仅有单量子的也有多量子的，原则上多量子跃迁是禁止的，但可以通过脉冲序列来激励，最后调制在单量子上进行检测。随着各种复杂而先进的脉冲射频技术的发展，激发某些通常情况下极为微弱的多量子磁化相干跃迁已成为可能。应用得较为普遍的是双量子滤波技术，通过在卷积期和检测期选择双量子相干转移（double quantum coherence transfer）进行双量子滤波（double quantam filter）能压制或除去某些不需要的信号，强调或突出某些需要的信息。例如，COSY 实验采用双量子滤波，就成为双量子滤波的相关谱（DQF-COSY）[10-12]。

1）DQF-COSY。

DQF-COSY 方法的显著特点是它的所有峰都是吸收型的，谱图比较清晰、干净，不像普通 COSY 谱的对角峰是离散型的；所有的相关峰都有精细结构，它们包含有参与偶合质子信号的裂分形态的信息；由于双量子滤波消除了所有不参与偶合的共振信号，大大抑制了对角线上的溶剂峰和不参与偶合的质子峰，使接近对角峰、容易受到对角峰掩盖的相关峰显现出来，特别有利于复杂分子的结构解析。

此外，许多常规 2D-NMR 实验的完成和处理方式会把它们所包含的相位信息（峰是正还是负，是吸收型还是离散的）抛弃掉。虽然这对于某些实验实际上是更方便，而且也是无害的，但要是相位能被保留的话，COSY 能够产生许多额外的信息。配合相敏检测使交叉峰显示出具有精细结构的和包含有相位信息的图形，从这种图形可读出信号的裂分形态和偶合常数并进一步区分其中的裂分是起源于主动偶合还是被动偶合，是相邻偶合还是远程偶合。

最理想的相敏模式实验是相敏 DQF-COSY。在相敏 DQF-COSY 谱中交叉峰都是吸收型模式，并且带有正和负的相位信息。任何特定的核与核相关当然都是因为他们之间有偶合存在（称之为主动偶合），但所包含的核可能还有与其他核的偶合（称之为被动偶合），所以交叉峰都以二维多重的形式出现。在这种多重峰中主动偶合产生的裂分峰幅度都显示出一种相位交替的基本模式，而被动偶合造成的裂分就没有相位改变。因此主动偶合与被动偶合就很容易加以区分，只要看一看裂分是否有相位交替。这种信息的一个简单用途就是测定是否这种交叉峰起源于一个大数值的偶合，更一般地讲，还能决定系统中所有的偶合常数，因此是一种非常有价值的工具。这一技术在复杂天然产物结构测定中已日益普及。可以预料相敏 DQF-COSY 将会变成一种标准 COSY 技术用于解决各种复杂的结构问题。作为一个例子，图 3-54 为后面将要讨论的多醚类抗生素 RVA18 的 DQF-COSY 谱。

相敏技术已在 2D-NMR 波谱中得到广泛采用，利用相敏技术不仅能够得到高分辨率的相关谱图，并且能够得到有用的相位信息。例如，检测质子间通过空间连接的 NOESY 谱也可以以相敏的形式进行，得到相敏的 NOESY 谱。图 3-55 就是 RVA18 的相敏 NOESY 谱。当然这一方法也有缺点，就是为了最好地利用相位信息往往采用较高的数字分辨率，因此实验需要的机时比较长。另外，因为它对核的弛豫不完全更为敏感，如果实验参数设定不当，容易产生假相关峰（人为造成的相关峰）。

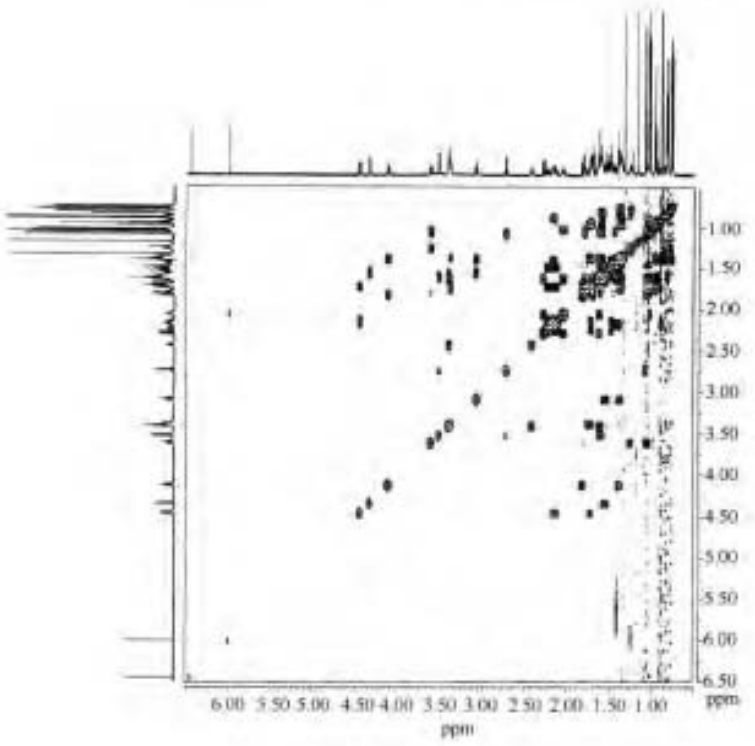


图 3-54 RVA18 的 DQF-COSY 谱

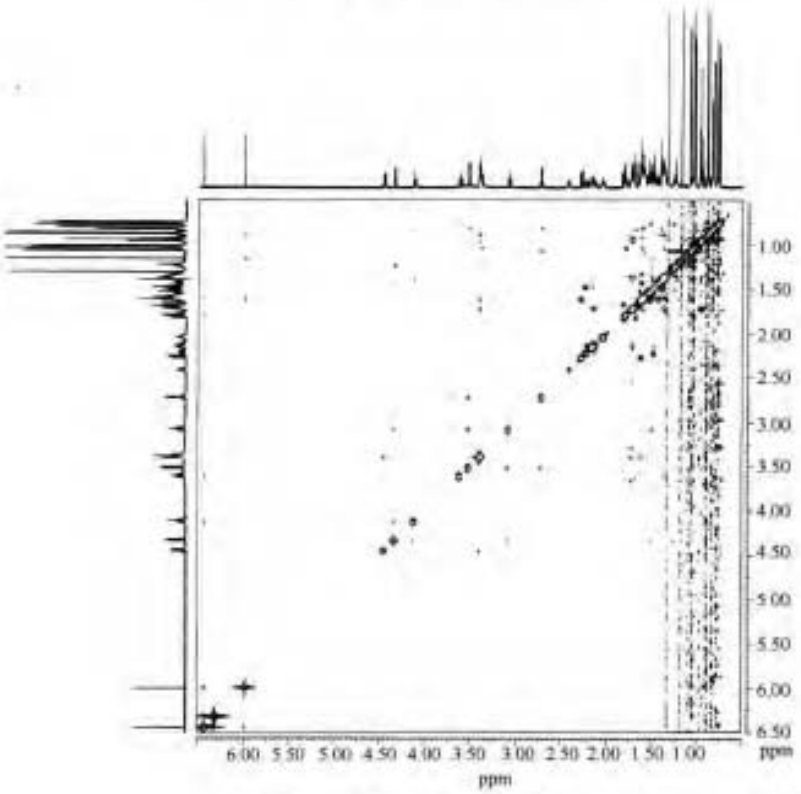


图 3-55 RVA18 的相敏 NOESY 谱

2) 2D-INADEQUATE(C,C-COSY)[13]。

可以利用双量子滤波建立 C—C 直接相关的测试方法。由于^{13}C的自然丰度为 1.1%，^{13}C—^{13}C对的发生概率只有万分之一，并且^{13}C是低回磁比(ν)核种，因此^{13}C—^{13}C相关信号极为微弱，并容易受到^{13}C—^{12}C相干的干扰。可以利用双量子滤波压制^{13}C—^{12}C相干信号的干扰，直接测定^{13}C—^{13}C相关连接。这种方法称为 2D-INADEQUATE，它提供了直接探测分子中碳原子连接的测定方法，使得结构测定变得十分简单明了。这一方法灵敏度毕竟较低，只有在大量样品的情况下使用，目前应用还不多。

(2) 反检测核磁共振谱(Inverse NMR)[14]

核磁共振波谱的灵敏度除了取决于所研究核种的天然丰度外，还与所研究核种的性质——回磁比(ν)有关(表 3-1)。以上讨论的异核相关谱都是通过激发质子的磁化，通过杂核检测质子磁化对杂核磁化的调制作用，因此，它们的检测灵敏度可以用因子 $\nu_H(\nu_X)^{3/2}$来估算。如果异核相关谱的激发和检测都可以通过质子磁化来进行，它的检测灵敏度因素就是$(\nu_H)^{5/2}$。由于^1H的回磁比是^{13}C的回磁比的 4 倍。换句话说，通过 H 检测的 C,H 相关谱的灵敏度是用 C 检测时的 8 倍，如果观测的杂核是回磁比(ν)值更小的^{15}N，则倍数更大(表 3-1)。这个灵敏度的提高使得检测异核间的直接和远程相关极为有利，因此，这种反检测的异核相关实验非常有吸引力。

表 3-1　反检测核磁共振谱灵敏度比较

实验	SN	放大倍数	C	N
Direct	$\nu_X(\nu_X)^{3/2}$		1.0	1.0
INEPT,DEPT	$\nu_H(\nu_X)^{3/2}$	$\nu_H(\nu_X)^{3/2}$	4.0	9.9
Inverse INEPT	$\nu_X(\nu_H)^{3/2}$	$\nu_H(\nu_X)^{3/2}$	7.9	31.0
Inverse Shift Correlation	$\nu_H(\nu_X)^{3/2}$	$\nu_H(\nu_X)^{5/2}$	31.6	306.0

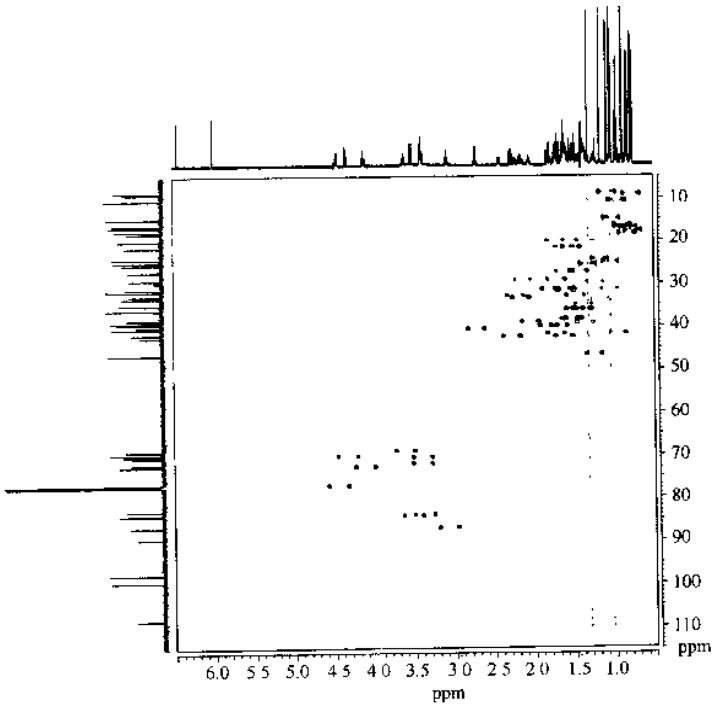


图 3-56　RVA18 的 HMQC 谱

2) 2D-INADEQUATE(C,C-COSY)[13]。

可以利用双量子滤波建立 C—C 直接相关的测试方法。由于^{13}C的自然丰度为 1.1%，^{13}C—^{13}C对的发生概率只有万分之一，并且^{13}C是低回磁比(ν)核种，因此^{13}C—^{13}C相关信号极为微弱，并容易受到^{13}C—^{12}C相干的干扰。可以利用双量子滤波压制^{13}C—^{12}C相干信号的干扰，直接测定^{13}C—^{13}C相关连接。这种方法称为 2D-INADEQUATE，它提供了直接探测分子中碳原子连接的测定方法，使得结构测定变得十分简单明了。这一方法灵敏度毕竟较低，只有在大量样品的情况下使用，目前应用还不多。

(2) 反检测核磁共振谱(Inverse NMR)[14]

核磁共振波谱的灵敏度除了取决于所研究核种的天然丰度外，还与所研究核种的性质——回磁比(ν)有关(表 3-1)。以上讨论的异核相关谱都是通过激发质子的磁化，通过杂核检测质子磁化对杂核磁化的调制作用，因此，它们的检测灵敏度可以用因子 $\nu_H(\nu_X)^{3/2}$来估算。如果异核相关谱的激发和检测都可以通过质子磁化来进行，它的检测灵敏度因素就是$(\nu_H)^{5/2}$。由于^1H的回磁比是^{13}C的回磁比的 4 倍。换句话说，通过 H 检测的 C,H 相关谱的灵敏度是用 C 检测时的 8 倍，如果观测的杂核是回磁比(ν)值更小的^{15}N，则倍数更大(表 3-1)。这个灵敏度的提高使得检测异核间的直接和远程相关极为有利，因此，这种反检测的异核相关实验非常有吸引力。

表 3-1　反检测核磁共振谱灵敏度比较

实验	SN	放大倍数	C	N
Direct	$\nu_X(\nu_X)^{3/2}$		1.0	1.0
INEPT,DEPT	$\nu_H(\nu_X)^{3/2}$	$\nu_H(\nu_X)^{3/2}$	4.0	9.9
Inverse INEPT	$\nu_X(\nu_H)^{3/2}$	$\nu_H(\nu_X)^{3/2}$	7.9	31.0
Inverse Shift Correlation	$\nu_H(\nu_X)^{3/2}$	$\nu_H(\nu_X)^{5/2}$	31.6	306.0

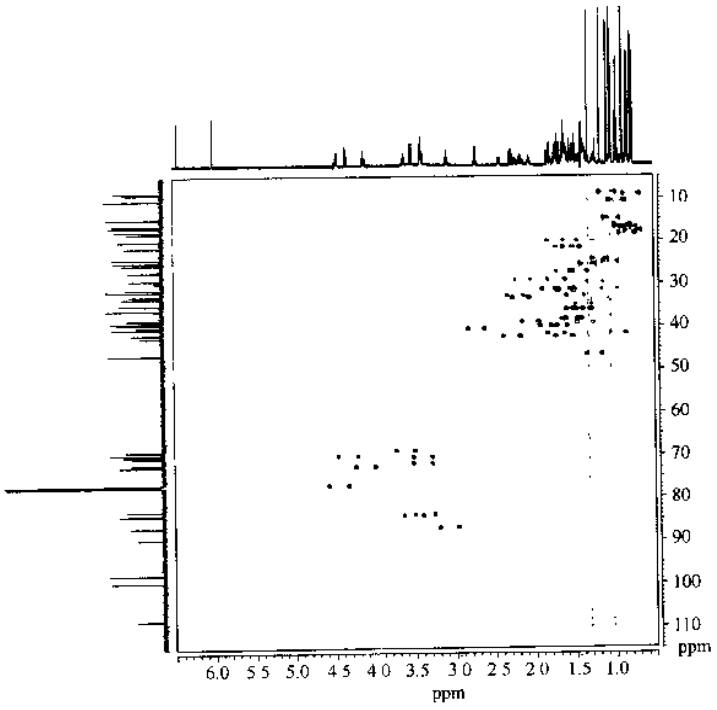


图 3-56　RVA18 的 HMQC 谱

里实验参数的选择至关重要，必须选择测定的隔两个键（$^2J_{CH}$）和隔三个键的（$^3J_{CH}$）C—H 偶合常数与分子中实际的偶合常数尽可能一致。如果分子中待测 C—H 远程偶合常数差别很大，有必要选择不同的偶合常数，进行多个 HMBC 实验，才能得到足够数量的远程偶合相关信息，供结构解析之需。为此，迫切需要有更高灵敏度，能够快速提供 C—H 远程偶合相关（即$^2J_{CH}$和$^3J_{CH}$）信息的实验。

近年来，随着脉冲梯度场技术的出现，已不必采用双量子滤波和复杂的相位循环的方法去消除非 NMR 活性原子（如^{12}C）上的质子信号，只要简单地通过脉冲梯度场的量子选择作用，就能够有效地抑制非 NMR 活性原子（如^{12}C）上的质子信号。这些借助于梯度场的反向检测实验分别称之为 gHMQC 和 gHMBC。近年来，安装的高场 NMR 谱仪或新型号谱仪都装备有梯度场探头，可完成梯度场实验。由于 gHMQC 和 gHMBC实验灵敏度更高，实验用的时间更短，在结构鉴定中常常通过设定多个延迟时间不同的 HMBC 实验，以得到更多的 C—H 远程偶合关系。

（3）接力相干转移和多重接力相干转移测定方法的发展

核与核之间其磁矢量在磁场中进动时如果有相干作用存在，只要施加进一步的脉冲就能使这种相干沿偶合链重新分布。所谓"接力相干转移"就是说相干被转移到直接偶合的核之后，又被进一步转移到下一相邻核。在上述的 COSY 实验中通过追加一定的附加脉冲也可使这种磁化相干作用沿自旋偶合系统传播。这一概念导致了各种接力相干转移实验的产生。这种实验叫接力相关谱。根据参与相干接力的核种可以分为 H_1-H_2-H_3 接力和 H_1-H_2-C_2 接力两种。前者的结果是质子 H 在 COSY 谱中不仅显示与 H_2 的相干点，而且进一步显示与 H_3 的相关峰，从而提供了分子中偶合链的接力相关信息。对于后者 H_1 不仅显示与 H_2 的 vicinal 偶合，并且显示与 C_2 的$^2J_{CH}$偶合相关点，这种图谱叫做异核接力相关谱，它实际上提供了 C_1-C_2 相关（相互连接）的信息。不仅如此，经过一次接力的相干转移还可通过脉冲序列作进一步的接力极化转移得到多重接力相干的图谱，从而提供 H_1-H_2-H_3…的偶合链信息。

1）TOCSY（total correlation spectroscopy）谱[17,18]。

最近，这种分子内 H 偶合链的接力相干信息，已可从交叉极化的现象来激发，只要使用一种称之为 Hartmann Hahn 的脉冲序列就能激发磁化相干作用沿偶合链而传播，从而得到该质子与偶合链中其他质子的相干关系，这种谱称为 2D-HOHAHA 谱。这种基于在自旋锁定（spin lock）条件下通过各向同性混合或交叉极化的原理而激发的磁化相干迁移能沿着偶合链而传播，传播的远近取决于脉冲序列中的自旋锁定时间的长短，如果自旋锁定时间足够长，能够提供从受激发信号起的整个偶合链的相关信息，因此又称完全相关谱。其主要优点是产生净磁化迁移，得到的是相敏的二维谱，并且其中的相关峰都是吸收型的，谱图清晰、分辨率高。

各种接力相干转移实验、特别是 TOCSY 谱的出现解决了天然产物结构解析中的另一个难题，这就是质子信号重叠的问题。因为质子信号的重叠会妨碍 H 自旋偶合链的解析。当一个由多个 H 信号组成的偶合链中有一个 H 信号与非此偶合链的其他 H 信号相互重叠时，由于无法判别下一个相关峰是与该 H 偶合，抑或是与其他 H 偶合，偶合链的解析便无法继续进行下去。采用 TOCSY 实验能够轻易地克服这个困难：只要从该偶合链中选择一个分辨良好、不与其他信号重叠的信号作为解析的起点（entrance point），便可以鉴定属于该偶合链的所有 H 信号。每一个 H 信号在偶合链中的序列归属可与 COSY 相互配合完成（详细的实例介绍见后文）。显然，这种方法对于解析具有多个偶合链、H 信号相互重叠严重的复杂分子非常有用。特别是对于由许多亚结构单元组成的天然化合物，如寡糖或配糖体、环肽或多肽和大环内酯等，为残基内或环内信号的归属提供了有力的工具。TOCSY 谱的运用是近代 2D-NMR 天然产物结构解析策略中的另一个亮点。图 3-58 是多醚类抗生素 RVA18 的 TOCSY 谱。

2）ROESY 实验[19,20]。

前面说过，NOESY 谱在天然产物的结构测定中广泛用于提供通过空间的连接和立体化学的信息。它对于分子内 H 的磁偶极弛豫分布比较窄（分子内质子的弛豫性质十分相近）的小分子的研究特别有用，其最大 NOE 增强可达到相应对角峰的 20%。随着研究的化合物更大、更复杂，其分子旋转相关时间 τ_C 越来越增加。另外，随着谱仪场强的提高，谱仪的角拉莫频率 ω_O 也越来越高。当 τ_C 与 ω_O 之积逐渐接近或达到 1（$\omega_O\tau_C\approx1$），NOE 的强度便接近于零。当 $\omega_O\tau_C$ 值大大超过 1 时，NOE 的强度达到相应对角峰的 50%。对

于当前广泛用于复杂天然产物结构分析的 500 兆周和 600 兆周高分辨谱仪来说，其 τ_C 与 ω_O 之积逐渐接近或达到 1($\omega_O\tau_C\approx1$)的相对分子质量范围在 800～2000 之间(取决于所研究的化合物)。这个范围正好是当前复杂天然产物(如环肽、植物配糖体、大环内酯等)出现最频繁的区域。利用 NOESY 谱测定 NOE 相关往往信号很少，对于结构解析十分不利。

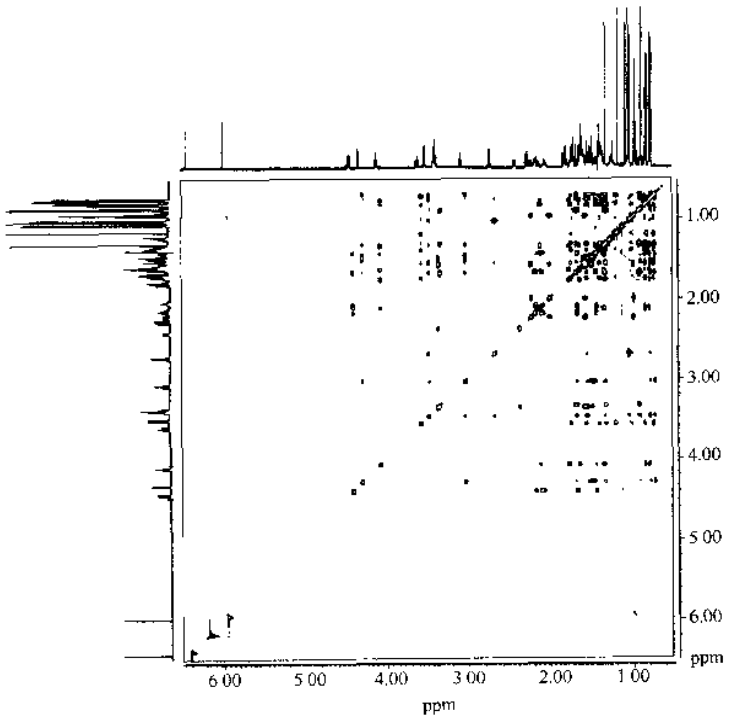


图 3-58 RVA18 的 TOCSY 谱

近年来，这个问题已有了妥善的解决方法。这就是采用前面 TOCSY 实验中所采用的自旋锁定脉冲序列，在自旋锁定条件下，横向交叉弛豫分量防止了绕 Z 轴的进动，所产生的旋转框架(rotating frame)NOE，其值总是正的，并且随 τ_C 的增加而增加，这样测定的 H,H 之间的 NOE 相关称为 ROESY 谱。对于相对分子质量在 800～2000 的复杂天然产物(属中等分子，相对分子质量 2000 以上可看成大分子)可改用 ROESY，往往可以得到更多的 NOE 相关信号。当然这个方法也有局限性，就是在自旋锁定条件下，由于相干转移，容易产生假相关信号，应注意加以鉴别。ROESY 谱与 NOESY 谱一样，可以记录吸收模式的谱图，得到正的和负的相关信号，以利于区分假信号。此外，如果采用改良的脉冲序列，并且参数选择得当，ROESY 谱对这些分子的溶液构象分析十分有用。

采用上述基本的和改进的 2D-NMR 波谱介绍，对于普通的小分子化合物的结构解析已可提出一般的和系统的解析方法。这种分析方法所包含的主要策略是首先通过编辑的 DEPT 或 INDEPT 谱把^{13}C 共振信号分类为 CH、CH_2、CH_3 和季碳原子；然后通过^{1}H,^{13}C-COSY 建立 C—H 组合单元；再通过^{1}H,^{1}H-COSY 谱解析分子的 H 自旋偶合骨架，并把它进一步转变为碳骨架部分构造。对于分子中的季碳原子和杂原子所造成的偶合链的中断可以通过 Delayed COSY(LRCOSY)实验提供的$^4J_{H,H}$、$^5J_{H,H}$和 COLOC 实验所提供的$^2J_{C,H}$和$^3J_{C,H}$信息来连接。因为$^4J_{H,H}$能提供 H—C—C*—C—H、H—C—X—C—H 的连接信息，而$^2J_{C,H}$和$^3J_{C,H}$反映了 H—C—C* 和 H—C—C*—C 或 H—C—X—C*(C* 为季碳原子，X 为杂原子)的相关信息，因此根据这些信息，就可以“透过”分子中的杂原于和季碳原子，来建立分子的完整共价键骨架。如果通过键的连接还不足以构建分子的平面结构，可进一步采用 NOE 差谱或 NOESY(ROESY)谱提供的通过空间的连接。最后可以采用 NOE 差谱或 NOESY(ROESY)谱来解决分子的相对构型或构象问题，得到分子的三维结构。

笔者多年来采用 DQF-COSY、TOCSY、NOESY、ROESY、HMQC、HMBC 等二维核磁共振波谱，建立了

一套从头开始的天然产物结构的系统解析方法，并用这个方法成功地测定了一系列皂苷化合物、寡糖、环肽、大环内酯、多醚类抗生素等的结构。以下几节拟对这种系统结构解析法及其对皂苷化合物、寡糖、环肽等的应用做一介绍。

四、新颖天然产物结构的系统测定法
——从头开始的结构解析

前一节，介绍了近年来核磁共振波谱技术的发展和实验方法的进步，以及如何利用 2D-NMR 波谱把分子中的各种核（包括 C、H、N 等）通过相互关联（correlation）进行连接的概念（包括通过键的连接，通过空间的连接和通过化学交换的连接）。由于核磁共振波谱已能对组成分子的每一个 NMR 活性核加以分辨，对其性质加以表征，利用核与核连接的概念就能把这些核连接起来，得到分子骨架。在有分子骨架的基础上，再根据核磁共振提供的关于核与核空间相互关系的信息（如偶合常数和 NOE 相关等）解决分子的立体化学问题（包括分子的相对构型和构象）。NMR 波谱对解决分子的绝对立体化学问题则有较大局限性，尽管可以采用手性位移试剂的方法解决，但是实际较少采用，往往有待于其他物理方法（如 CD 光谱或单晶 X 射线衍射）的帮助或配合。综上所述，对于结构复杂的新颖天然产物分子的结构测定，今天较少采用以往的质子偶合形态分析来推断结构，而是从一开始就通过一维 H 谱和 C 谱，对组成分子的 C，H 核加以分辨，通过 DEPT 谱和 C—H 相关谱对 C，H 核的性质和连接关系进行分析，根据 C，H 核的化学位移对分子内可能存在的杂核如 N、O、P、S 和 X（卤素）原子及数量做出判断，再结合质谱或高分辨质谱的数据决定其分子式。然后，就大量采用 2D-NMR 波谱技术，对这些核之间的连接关系进行系统的解析，得到分子骨架。在此基础上，才进行详尽的质子偶合形态分析和空间关系分析，必要时进行各种谱学编辑和处理，解决分子的构型和构象问题，同时对分子的骨架结构进行验证。因此，与以往相比，今天的天然产物的 NMR 波谱分析的特点是：更多地运用杂核（如^{13}C、^{15}N）的 NMR 信息，更多地采用 2D-NMR 方法和 NMR 波谱编辑技术获得核与核相关和连接的信息，把分子片断连接成分子骨架。从大量的候补结构中寻找正确的结构这个以往结构测定中十分困难而缓慢的步骤，今天变得比较容易和快速。这正是得益于上述 NMR 波谱技术和实验方法的发展，也充分反映了近代天然产物结构测定中技术进步的精髓。以下以抗生素 alborixin 的结构测定为例，介绍天然产物结构系统测定法——从头开始的结构解析（*ab initio* structure determination）方法。

20 世纪 80 年代中期，中国科学院上海植物生理研究所郑幼霞等试图通过微生物原生质体融合重组的方法，发现新抗生素。他们通过庆丰链霉菌（*Streptomyces qingfengmycin*）和井冈链霉菌（*Streptomyces jinggangmycin*）的原生质体融合重组，得到一株编号为 RVA18 的新菌株，该菌株生产出一种抗生素 RVA18。RVA18 对革兰氏阳性和革兰氏阴性细菌显示较强的抑制作用。但是，其理化性质与庆丰链霉菌和井冈链霉菌生产的抗生素（分别为核苷类和氨基糖类抗生素）明显不同。采用低场 NMR 波谱研究发现其结构极其复杂，研究工作延续数年，毫无结果。当时正值我国引进第一台 600 兆周高分辨 NMR 谱仪，便尝试采用 600 兆周谱仪进行分析，仅数周便一举确定其结构。尽管最终结构鉴定为一已知的抗生素 alborixin，但是其结构测定是首次采用天然产物结构系统测定方法完成的，不失为是一个采用从头开始进行结构解析的好例子[21]。

RVA18 为无色无定形粉末，熔点 98～100 ℃，UV 显示末端吸收，IR 提示有羧酸、羟基和醚键存在（γ_{max}（cm^{-1}）：3500～3100、1725、1100～1030），$[\alpha]_D$：－7.2°（acetone）。正离子 FAB 质谱显示准分子离子峰 m/z 907 $[M+Na]^+$ 和 923$[M+K]^+$，提示相对分子质量为 884。负离子 FAB 质谱显示分子离子峰 m/z 884 $[M-H]^-$，进一步证实其相对分子质量为 884，其^1H-NMR 如图 3-59 所示，高场局部放大的谱图显示分子内有 12 个甲基存在，其中 3 个甲基（单峰）接在季 C 原子上，8 个甲基（双峰）接在叔 C 原子上，1 个甲基（3 重峰）接在仲 C 原子上。低场局部放大的谱图显示有 8 个接氧原子的—CH—信号和 1 个 CH_3—CH—CO—信号，此外还有 3 个可交换质子存在。其^{13}C-NMR 和 DEPT 谱如图 3-60，分类编辑的 DEPT 谱清楚地显示分子内有 48 个 C 原子，其中 12 个甲基，12 个次甲基和 17 个亚甲基存在。凡未在 DEPT 谱中出现的^{13}C-NMR 信号可归属为季 C 信号，对照完全去偶的^{13}C-NMR 和 DEPT 谱，可发现有 7 个季 C 原子，其中 1 个出现在 176.4ppm，为羧基信号。进一步根据其化学位移可判断分子中有 16 个接氧 C 原子。结合质谱数据可以推

断分子内有 14 个氧原子，其中 7 个为羟基，其余 7 个为醚氧原子，分子式初步推断为 $C_{48}H_{84}O_{14}$，分子不饱和度为 7。根据化学位移判断，分子内只有 1 个羰基存在于羧酸中，无其他双键和三键存在。余下 6 个不饱和度提示有 6 个环，它们可能是由 6 个醚键构成的。因此可以推测 RVA18 可能为多醚类抗生素。

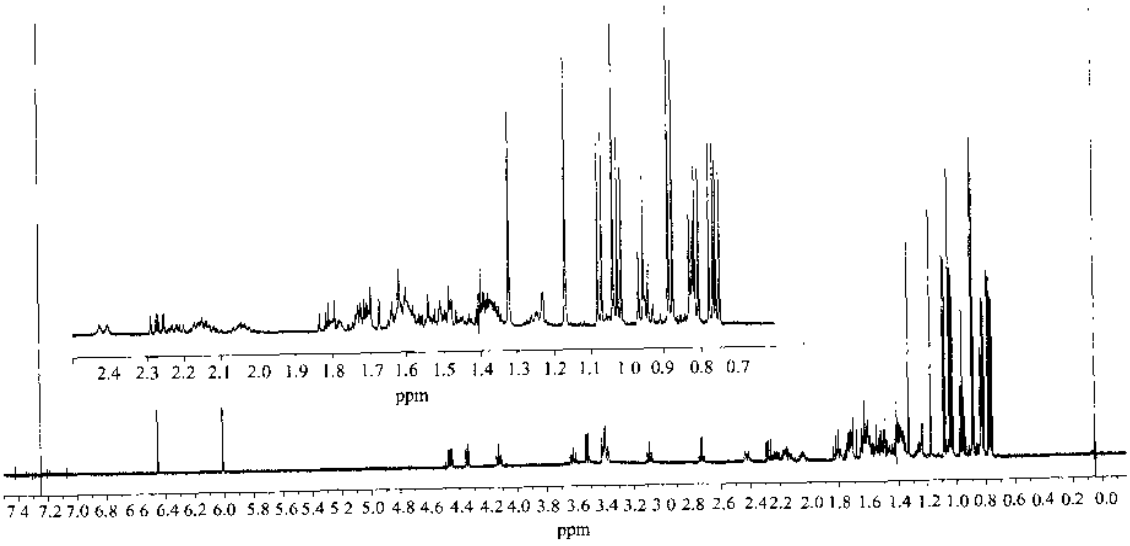


图 3-59 RVA18 的^{1}H-NMR 谱

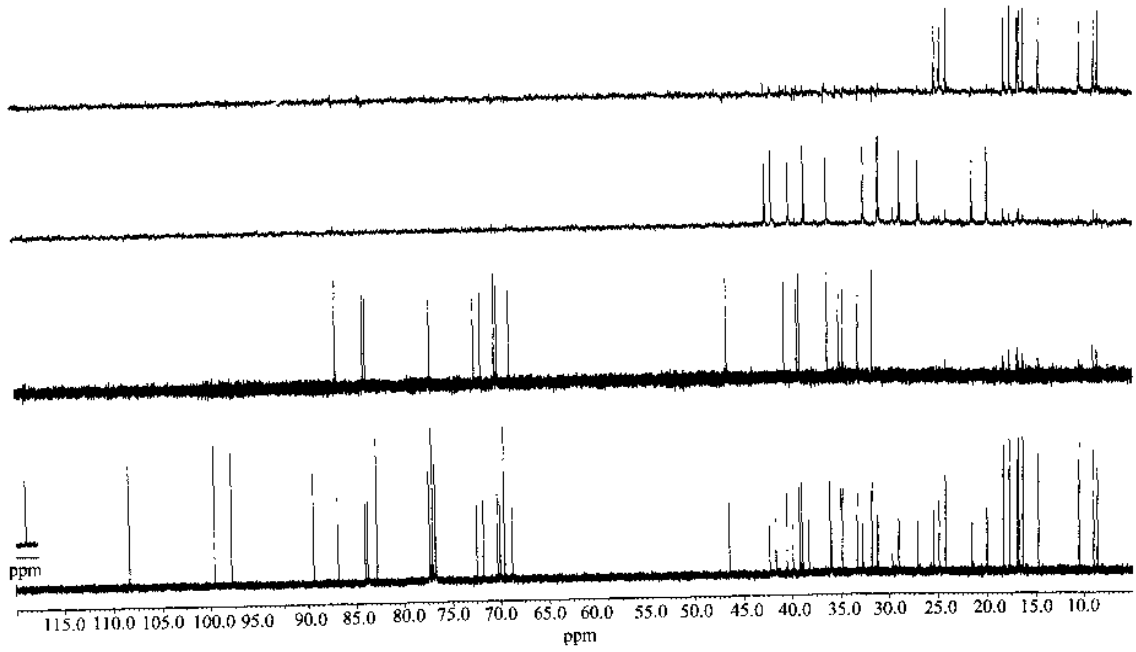


图 3-60 RVA18 的 DEPT 谱

下一步采用 HMQC 实验建立分子内 C 原子与质子的连接关系，如前所述，HMQC 实验是一种反向检测（由质子检测）的 C，H 相关实验，具有灵敏度高，H 信号分辨率好的优点。图 3-61 是化合物 RVA18 的 HMQC 谱低场侧的放大图。需要说明的是，图 3-61 中每一个 C—H 相关点都裂分成两个峰，相应的 H 信号出现在两个峰的垂直平分线上。这是由于在实验中未对 C、H 之间的偶合进行去偶，导致 C—H 相关峰都裂分成两个峰。因此，这两个峰之间的距离（赫兹数）就是 C—H 偶合常数。图 3-61 中清楚地显示出有 9 个接

氧的—CH—相关信号，由此立即可以归属其相关的C信号。此外，在化学位移 δ 3.40 处有相互重叠的3个H信号，在HMQC谱中清晰地显示与化学位移分别为 δ 70.27、71.74、83.73 的3个C信号相关。在高场的局部放大图中(图3-62)，12个甲基质子信号根据清晰的相关信号很容易地归属于各自的C信号。2个被巨大的甲基信号覆盖掩埋的质子信号 H_5 和 H_{12} 也很容易根据其相关信号而发现。C—H相关实验的一个重要作用就是对C信号进行分类，可根据其连接H原子的数量确定其多重度。在高场侧12个与甲基的3个H原子相连的C信号的多重度为 q，在低场侧9个与甲基的1个H原子连接的C信号的多重度为 d，这些结果与DEPT谱完全一致。在H谱的 δ 1.20～2.80 区域，特别是 δ 1.30～1.90 区域有大量质子信号相互重叠，分辨十分困难。在HMQC谱中，这些区域的质子信号与其相应的C信号的相关信号沿C原子的化学位移而散布开，根据相关峰的 X 轴(H化学位移)和 Y 轴(C化学位移)对应的H、C信号便可把相应的信号关联起来，并做出归属。如果 X 轴(H化学位移)的数据分辨率足够高，可在各C信号对应的化学位移处对二维谱作截面，进行谱学编辑，得到各C信号对应质子的H亚谱，得到H信号的裂分形态，这对于严重重叠的H信号的分析十分有用。例如，在化学位移为 δ 1.38 和 1.60 处有两个巨大的包络峰，由于信号重叠严重，无法加以分辨。从HMQC的高场局部放大图中可以知道，δ 1.38 的包络峰由 H_{14}、H_{16}、H_{18}、H_{19} 和 H_{36} 等5个H信号组成，δ 1.60 处的包络峰由 H_{33}、H_4、H_{29}、H_{33}、H_{32} 和 H_{13} 等6个质子信号组成。由此可见，C—H相关实验的另一个重要作用就是可对C、H的连接关系进行归属，并且能够借助于其对信号的散布，拆分彼此重叠的质子信号。不仅如此，C—H相关实验还能够提供有关质子间 geminal 的偶合关系。例如，对于 C_{36}、C_{32}、C_{13}、C_{24}、C_{12}、C_{33}、C_{25}、C_{19}、C_8、C_{16}、C_5 和 C_{29} 等信号分别显示有2个H信号与之相关，表明这些C信号的多重度是 t，因此与每一个C信号相连的2个H信号之间的偶合关系就是孪生的。对于结构复杂的天然产物，由于质子数量多，又有信号重叠，质子间偶合关系的解析(区分哪些是邻位偶合，哪些是孪生偶合)往往是十分复杂而困难的事。通过对与多重度为 t 的C信号相关的H信号的解析就立即能够得到质子间孪生的偶合关系，这为下一步采用同核二维核磁共振波谱详尽地解析相邻质子间的偶合关系打下基础，大大简化其解析过程，这是C—H相关实验的又一个重要用途。在HMQC谱中未显示与任何C原子偶合相关的H信号就是与杂原子连接的H信号，一般都是可交换质子，可以通过用重水进行氘交换加以确认。在本例子中，化学位移为 δ 6.0～6.5 的两个尖峰可归属为羟基质子信号。

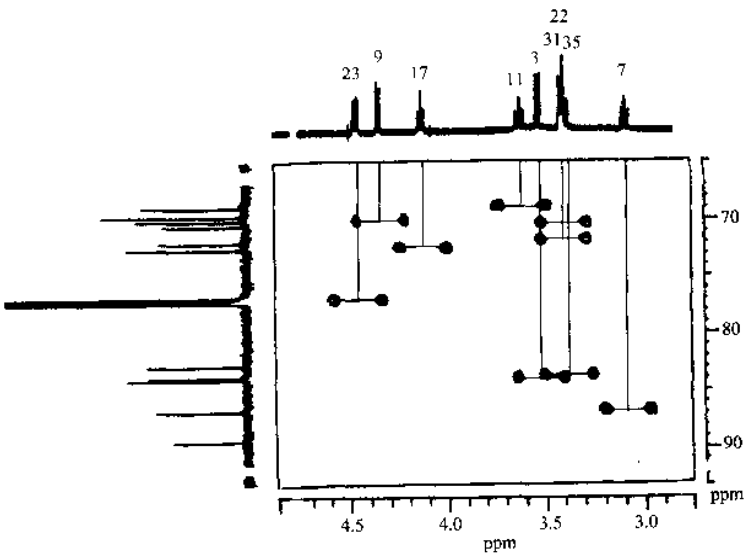


图3-61　RVA18的HMQC谱

在采用一维氢谱、碳谱和二维C—H相关谱(有时还配合使用DEPT谱)对组成分子的C信号和H信号及C—H直接连接关系进行充分解析之后，下一步的目标就要对H信号之间的偶合关系加以解析。任何两个质子间邻位偶合关系的发现与确认都可以看做是与这两个质子相连接的C原子之间共价键连接的直接

证据，对于分子部分构造的建立具有重要的价值。对于构造简单的分子，利用 COSY 或 DQF-COSY 实验，通过逐级解析质子间的偶合关系就能直接完成分子中全部质子间自旋偶合链的解析，得到组成分子的部分构造。对于构造极其复杂的天然产物分子，分子内质子间偶合关系的解析就没有那么简单。

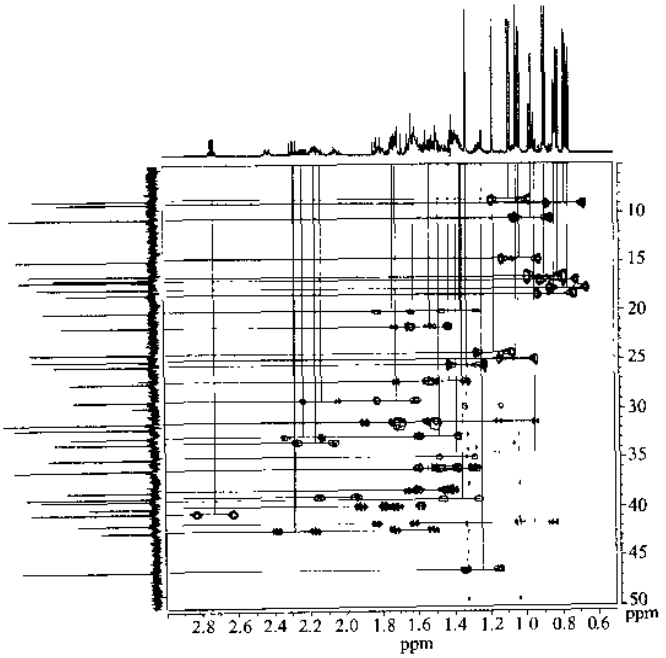


图 3-62 RVA18 的 HMQC 谱高场放大图

首先面临的问题是解析从何处着手进行？二维 NMR 波谱的解析应选择一个好的切入点(entry point)。好的切入点应该是一些分辨良好，容易识别的信号，它们可以明确地归属于特定的结构片断，又以某种方式与谱图中的其他信号连接。从这个坚实的基础开始，我们就可以通过自旋偶合或 NOE 相关发现其相邻核，再通过进一步的相关发现下一个相邻核，如此重复，直到这一个系列中所有的相关用完为止，得到分子的一个部分构造。对于结构复杂的分子，常常需要寻找另一个切入点，进行新一轮归属，得到另一个部分构造。例如，图中的信号 H_2(δ 2.100，dq)，其化学位移提示为羰基的 αH，其自旋裂分为它进一步显示与 δ 1.072(d)的甲基信号相偶合。这些偶合关系提示分子内一个—CH(CH_3)—COOH 部分构造的存在，这个信号可以作为进一步解析的切入点。

复杂天然产物结构解析的最主要的困难之一是信号的重叠导致质子间自旋偶合链解析的中断，无法得到完整的分子部分构造。图 3-63 是 RVA18 的 DQF-COSY 谱，谱图的低场侧信号分辨良好，质子间的偶合关系可以得到清晰的解析。谱图的高场侧，特别是靠近 δ 1.3～1.8 区域，信号重叠严重。任何质子自旋偶合链的解析一旦进入这个区域就无法继续，导致质子自旋偶合链解析的中断。换句话说这里是多条质子自旋偶合链的交叉点，由于信号重叠无法确定下一个偶合相关点是属于哪一条自旋偶合链，多条质子自旋偶合链在这里形成“死结”。例如，图中显示 H_2 与 H_3，以及 H_3 与 H_4 的偶合相关峰。但是 H_4 的化学位移落入 δ 1.6区域，如前所说该区域有 5 个 H 信号重叠在一起，尽管与该位置的其他偶合相关信号很多，无法确定它们哪一个信号与 H_4 偶合相关，抑或是否与 H_4 偶合相关，自旋偶合链的解析无法继续。

现代核磁共振波谱技术为克服天然产物结构解析的这一难点提供了新的方法和途径，这就是前面提到的 TOCSY 实验，它与 DQF-COSY 实验相互配合，能够帮助人们透过这个盲点，完成整个自旋偶合链的解析。图 3-64 是 RVA18 的高分辨 TOCSY 谱图，比较图中从 H_2、H_3、H_7 和 H_9 等信号出发的偶合相关图式，可以发现它们相互之间都有类似或部分类似之处，表明它们是处于同一个质子自旋偶合链之中，这个质子自旋偶合链很长，包含的质子信号达十数个之多。这些质子间的自旋偶合关系既可以通过与 DQF-COSY 谱中相应位点的偶合相关信号进行比较，也可以通过与 TOCSY 谱中其他有关的接力偶合相关图式相互比较来完

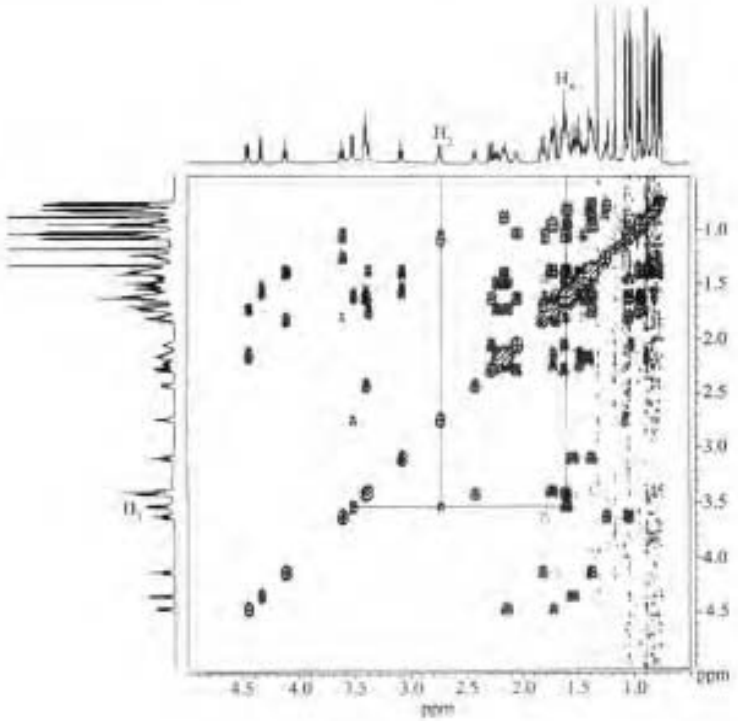


图 3-63　RVA18 的 DQF-COSY 谱

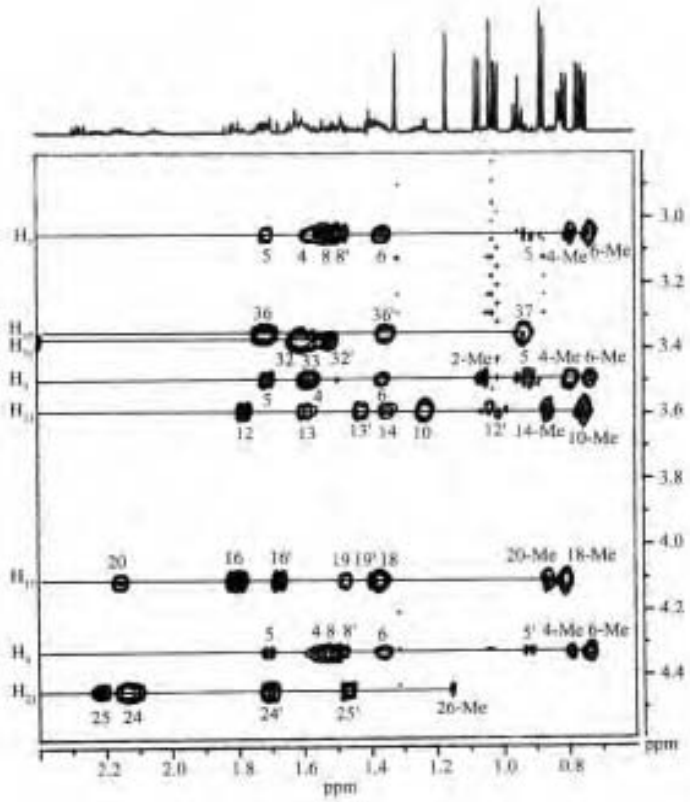


图 3-64　RVA18 的 TOCSY 谱

成。例如，在 DQF-COSY 谱中显示清晰的 H_2-(2-CH_3)-H_3-H_4 邻位偶合关系。由于 H_4 位于信号重叠严重的区域，在 DQF-COSY 谱中无法判断下一个自旋偶合质子，抑或自旋偶合链在 H_4 终止，自旋偶合链的解析无法继续。借助于 TOCSY 实验，自旋偶合链的解析可以继续进行下去。TOCSY 谱中，H_2 除显示与 2-CH_3 和 H_3 之间的直接偶合外，还显示与 H_4 以及 4-CH_3 之间的接力偶合。其中 4-CH_3 信号的归属可以从 DQF-COSY 谱中 H_4 与 4-CH_3 间的相关峰得到进一步证实。这里需要指出，如果没有 TOCSY 谱中 H_2 与 4-CH_3 之间的接力相关，还无法根据 DQF-COSY 谱中 H_4 与该甲基的相关峰把该甲基信号归属为 4-CH_3，因为在 H_4 的位置上有多个 H 信号存在，无法肯定该甲基是与 H_4 还是与其他质子偶合。因此，DQF-COSY 谱中 H_4 与该甲基的相关峰只是进行归属的必要条件，还不是充分条件。与 DQF-COSY 相比，TOCSY 谱中 H_3 不仅显示与 H_2，H_4 的直接偶合相关，还显示与 H_5、$H_{5'}$、H_6、H_7、2-CH_3、4-CH_3、6-CH_3 等 H 信号之间的接力偶合相关。其中 2-CH_3、4-CH_3 信号归属是从上述分析得到的，至于 H_5、$H_{5'}$、H_6、H_7、6-CH_3 等信号归属是如何得到的，还需要 DQF-COSY 谱的配合。可从 DQF-COSY 谱中 H_4 的对角峰出发逐个核对 H_4 与上述质子之间(除 H_3 以外)是否有偶合相关峰出现。尽管在 δ 1.3～1.8 ppm 区域许多交叉峰重叠严重，无法清晰地辨别，但是，H_4 与位于相对较高场的 $H_{5'}$ 之间的相关峰是清晰可辨的，$H_{5'}$ 信号的归属可以确认。进一步根据 HMQC 实验提供的信息，从 $H_{5'}$ 可以归属 C_5 上的另一个 H 信号，它与 H_5 构成孪生偶合。从 H_5 信号出发在 DQF-COSY 谱又可以找到与 H_6 之间的偶合相关峰，从而归属 H_6 质子信号。从 H_6 信号出发，利用 DQF-COSY 谱很容易进一步归属 H_7 和 H_8 信号，可以把 TOCSY 谱中从 H_7 出发的偶合相关图式与从 H_3 出发的偶合相关图式进行比较，H_7 显示与 H_6、H_8、$H_{8'}$ 之间的直接偶合和与 H_5、H_4、H_3、H_9 及 4-CH_3 之间的接力偶合，另一个与之接力偶合的较强甲基信号可归属为 6-CH_3，它可由 DQF-COSY 谱中 H_6 与 6-CH_3 之间的相关峰进一步证实。再把 TOCSY 谱中从 H_6 出发的自旋偶合图式与从 H_7 出发的自旋偶合图式进行比较，立即就可以从中识别其与 H_8 的直接偶合和与 H_7、H_6、H_5、H_4 及与 4-CH_3、6-CH_3 之间的接力偶合。综合上述，分析可以得到从 H_2 到 H_9 比较完整的自旋偶合链，其中 H_5、H_8 为次甲基质子信号，H_2、H_3、H_4、H_6、H_7 和 H_9 是亚甲基质子信号，C_2、C_4 和 C_6 上连接甲基，C_3、C_7 和 C_9 为接氧 C 原子。这些分析得到的结果与上述一维 H 谱和 C 谱，以及 HMQC 实验得到的结果完全一致，体现出分析的严谨和结果的可靠性。

上述分析中，位于低场、分辨良好的 H_2、H_3、H_7 和 H_9 等质子信号可以看成是利用 DQF-COSY 和 TOCSY谱进行自旋偶合链解析的起点或入口。除此之外，H_{11}、H_{17}、H_{22}、H_{23}、H_{29}和 H_{31}也是好的切入点，利用 DQF-COSY 和 TOCSY 谱分别进行类似的解析，可以得到 4 条质子自旋偶合链。进一步根据 HMQC 实验得到的 C—H 偶合关系，就能够得到 RVA18 分子的 5 个部分构造[图 3-65(a)]。

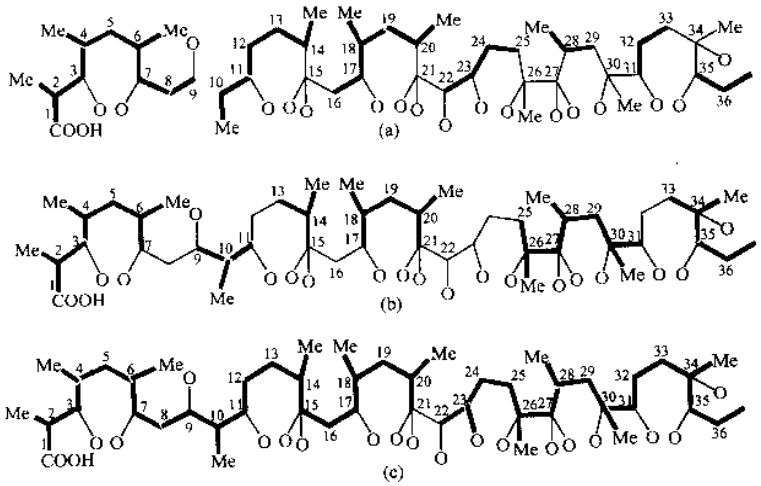


图 3-65 通过 2D-NMR 波谱分析得到 RVA18 分子的部分构造

复杂天然产物结构解析的另一个难点就是分子内的季 C 原子和 O、S 等杂原子。由于没有 H 原子的帮助，缺少连接信息，常常构成结构解析的盲点。RVA18 的分子结构除了上述部分构造以外，还有两个 OH 基

团和一些季碳原子组成，部分构造之间被季碳原子和杂原子分割。结构解析的下一个步骤就是要透过这些季碳原子和杂原子，把这些部分构造拼接起来。近代核磁共振波谱技术为完成这个任务提供了有力的手段，这就是异核多级键连接(HMBC)实验。图 3-66 是 RVA18 的 HMBC 高场局部放大谱图，实验设定的$^2J_{CH}$和$^3J_{CH}$检测值为 6Hz。它为把分子的部分构造拼接成为分子骨架提供了丰富而可靠的信息。高场局部放大谱图显示，除了 31-CH_3 以外，每一个甲基质子信号都与 3 个 C 原子发生$^2J_{CH}$和$^3J_{CH}$偶合。例如，2-CH_3 信号显示与 δ 176.4(s)、40.4(d)和 83.9(d)等 3 个 C 信号的多键相关，由于 C 信号 δ 176.4 和 83.9 分别是季碳原子和接氧 C 原子，不可能与甲基连接。因此，δ 40.4 可归属为 C_2，信号 δ 176.4(s)和 83.9(d)可分别归属为 C_1 和 C_3。另外，4-CH_3 信号显示与 δ 83.9(d)、31.8(d)和 41.6(t)等 3 个 C 信号的多键相关，由于 δ 83.9(d)已归属为 C_3，而 δ 41.6(t)是次甲基 C 信号，不可能与甲基连接，甲基只能与化学位移为 δ 31.8(d)的 C 原子连接，因此该信号可归属为 C_4，δ 41.6(t)可归属为 C_5。6-CH_3 显示与 δ 41.6、36.1 和 86.8 等 3 个 C 信号多键相关，δ 41.6 已归属为 C_5，δ 86.8 为接氧次甲基信号，不可能与甲基连接，因此该甲基只可能与化学位移为 δ 36.1C 原子连接，因此 δ 36.1 归属为 C_6，而 δ 86.8 归属为 C_7。这些通过 HMBC 实验进行的从 C_1 到 C_7 的归属与通过 TOCSY 实验得到的从 C_1 到 C_7 的归属是完全一致的，从而进一步增强了上述结构解析的可信度。下一个甲基信号 10-CH_3 显示与 δ 70.0、46.4 和 68.8 等 3 个 C 信号远程偶合，由于 δ 70.0 和 68.8 都是接氧 C 信号，所以该甲基只能与化学位移为 δ 46.4 的 C 原子连接，因此 δ 46.4 可归属为 C_{10}，δ 70.0和 68.8 可分别归属为 C_9 和 C_{11}。H_9 和 H_{10}在 DQF-COSY 和 TOCSY 谱中未显示自旋偶合相关，可能是由于二质子间的二面角接近于 90°，偶合常数接近于 0，因此用 COSY 实验无法检测得到。借助于 HMBC 实验提供的信息，分子片断 1 和分子片断 2 得以拼接成为有关更大的分子片断。下一个甲基信号是 14-CH_3，它显示与 δ 27.2(t)、39.1(d)和 97.8(s)等 3 个 C 信号的远程相关。由于 δ 27.2 为次甲基信号，δ 97.8为季碳原子信号，它们都不可能与甲基连接，甲基只能与化学位移为 δ 39.1 的 C 原子连接，因此该 C 原子可归属为 C_{14}，而 δ 27.2 和 97.8 可分别归属为 C_{13}和 C_{15}，借此季碳原子 C_{15}被接入到左侧的分子片断中。把季碳原子 C_{15}被接入到右侧的分子片断中是通过 H_{16}和 $H_{16'}$两个孪生质子完成的，它们在 HMBC 谱中，分别显示与 C_{15} 和 C_{17}(δ 72.4)的远程相关。这样不仅把 C_{15}接入到右侧的分子片断之中，而且把前面的 3 个分子片断连接成为一个从 C_1 到 C_{20}的更大片断。类似地利用 20-CH_3 提供的$^2J_{CH}$和$^3J_{CH}$相关，可把接氧季碳原子 C_{21}接入这个大分子片断。分子在 C_{26}和 C_{27}出现两个连续的季碳原子，它们所分割的分子片断同样能够通过甲基提供的$^2J_{CH}$和$^3J_{CH}$远程相关信息而拼接起来。26-CH_3 显示与 δ 32.8(t)、89.3(s)和108.3(s)等 3 个 C 信号的远程相关，26-CH_3 是单峰，显然不会与化学位移为 δ 32.8 次甲基连接，而 δ 108.3 是属于半缩醛季碳原子，也无法连接甲基，因此，δ 89.3 可归属为 C_{26}，而 δ 32.8 和 108.3 的信号可分别归属为 C_{25}和 C_{27}。紧接着，28-CH_3 显示与 δ 108.3(s)、38.8(d)和 42.3(t)等 3 个 C 信号的远程相关。显然，该甲基只可能与化学位移为 δ 38.8 的亚甲基连接，因此，δ 38.8 可归属为 C_{28}，δ 108.3 已归属为 C_{27}，余下的信号δ 42.3可归属为 C_{29}。同样，利用 30-CH_3 提供的远程相关可透过季碳原子 C_{30}把两侧的分子片断连接起来，生成一个从 C_{22}到 C_{37}的分子大片断。通过 CH 远程相关分析得到的 RVA18 的部分构造如图 3-65(b)所示。把通过 TOCSY 谱和 HMBC 谱分析得到的部分构造综合起来可以得到图 3-65(c)的分子构造。由于 H_{22}未能显示与 C_{21}的远程相关，分子左右两个大片断暂时还无法拼接起来，形成统一的分子骨架。

以上主要是利用核磁共振波谱提供的通过键的连接信息，进行分子片断的拼接。至此，尽管用尽了所有通过键的连接信息，仍然无法得到完整的分子骨架。前面提到，核磁共振能够提供的连接分子部分构造的手段，除了通过键的连接之外，还有所谓通过空间的连接。这就是利用 NOE 相关信号提供的质子间空间相互接近的信息。质子间 NOE 相关的信息可以通过 NOE 差谱或二维 NOESY 谱得到。对于复杂的天然产物，质子与质子空间相互接近的信息十分复杂，故多采用二维 NOESY 实验，检测分子内存在的所有 NOE 相关信息。图 3-67 和图 3-68 是 RVA18 化合物 NOESY 谱的局部放大图，它包含有大量分子内质子间空间相互接近的信息。首先，δ 5.997 的 OH 信号与 26-CH_3 显示 NOE 相关，提示该信号可归属为 27-OH。δ 6.444 的 OH 信号与 14-CH_3 有 NOE 相关，表明该信号可归属为 15-OH。这两个 OH 信号的化学位移值和它们尖锐的峰形表明它们可能连接在半缩醛 C 原子上。另外，H_3 和 H_7 显示 NOE 相关，它们又都是接氧 C 原子上的质子，上述 NOE 相关信息提示它们所接的两个接氧 C 原子通过醚键连接，形成六元环。H_{11}和 15-OH 显

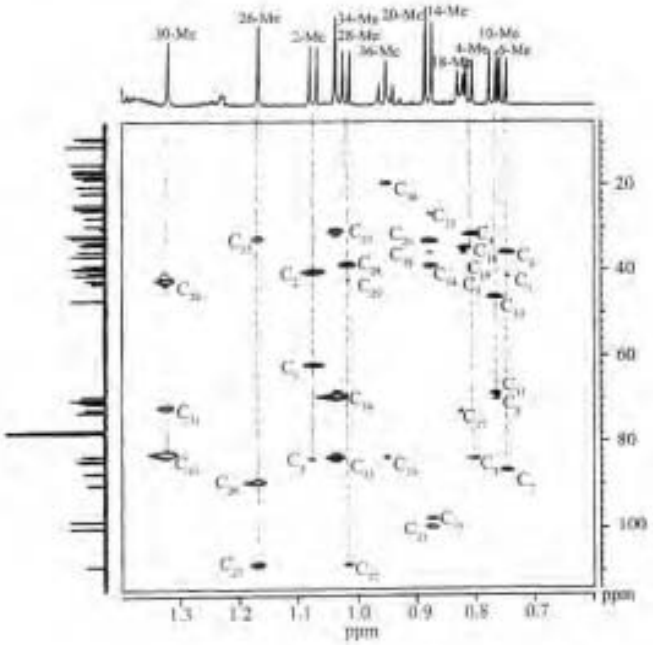


图 3-66 RVA18 的 HMBC 谱高场局部放大谱图

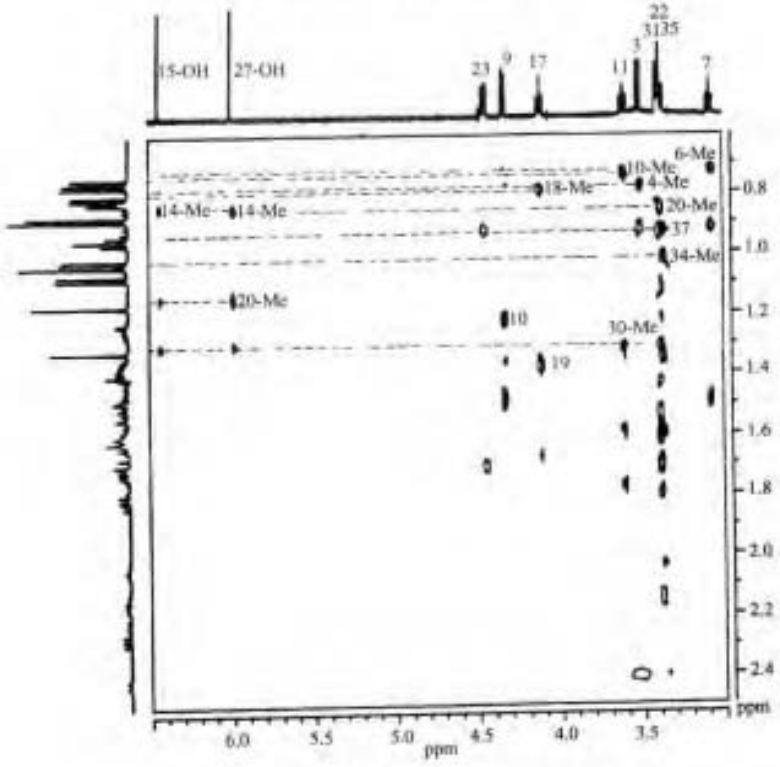


图 3-67 RVA18 的 NOESY 谱局部放大图

示 NOE 相关，表明 C_{11}和半缩醛季碳原子 C_{15}通过醚键生成另一个六元环。27-OH 信号与 30-CH_3 信号显示 NOE 相关，提示 C_{27}与 C_{30}通过醚键形成五元环。其中 C_{27}半缩醛 C 信号的化学位移为 δ 108.3。与之相比，分子内另一个半缩醛 C 原子 C_{21}的化学位移为 δ 99.1，提示该 C 原子可能包含在一个六元环中。根据其所

处的周围环境，可判断它与 C_{17} 通过醚键形成六元环。另外，H_{31} 显示与 H_{36} 的 NOE 相关，表明 C_{31} 与接氧 C 原子 C_{35} 通过醚键生成另一个六元环。至此，除 C_{21} 和 C_{22} 还各留下一个连接点外，分子内所有 C 原子的价键都已连接完毕。由于 20-CH_3 显示与 H_{22} 的 NOE 相关，表明 20-CH_3 与 H_{22} 在空间相互接近，提示 C_{22} 和季碳原子 C_{21} 相连。据此，可以把分子左右两个大片断连接在一起得到整个分子的骨架。从以上分析可以看到，在把部分构造连接成为分子骨架方面，质子间的 NOE 相关所提供的“通过空间的连接”信息是对“通过键的连接”的有力补充，对于连接被杂原子分割的原子团或部分构造能够提供十分有价值的信息。

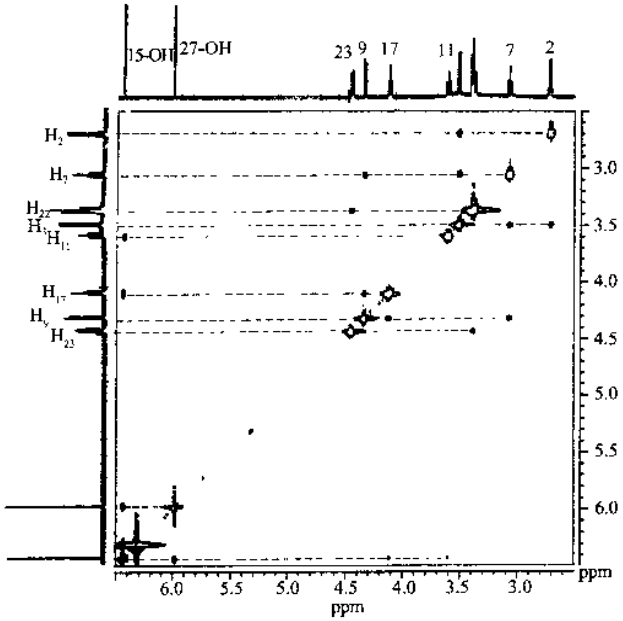


图 3-68　RVA18 的 NOESY 谱低场局部放大图

在得到分子骨架之后，结构解析的下一个目标就是解析分子的相对立体化学和构象问题。上述能够提供“通过空间的连接”的质子间 NOE 相关信息对于解决分子的相对立体化学和构象问题同样能够提供大量有用的信息。例如，在环 A 中，H_3 与 H_7 之间有 NOE，表明它们是顺式取代。H_3 与 4-CH_3 之间和 H_7 与 6-CH_3 之间的 NOE 相关提示 H_3、H_7、4-CH_3 和 6-CH_3 都是顺式取代。同样在环 B 中，14-CH_3 与 15-OH 之间的 NOE 相关提示它们是顺式取代。图 3-69 列出了 NOESY 谱中所有观测到的分子内 NOE 相关信息，根据这些信息，可以对分子的相对立体化学做出明确的归属。不仅如此，十分有趣的是，NOESY 谱中还包含有一些分子内远程的 NOE 相关信息，就是说在分子平面构造中一些远隔质子间有 NOE 相关。例如，H_{11} 和 15-OH 与远隔的 30-CH_3 之间显示 NOE 相关，14-CH_3 和 15-OH 与 27-OH 之间也显示 NOE 相关。这些远隔质子间的 NOE 相关只能用分子骨架的折叠来解释，它表明分子的构象并非如平面结构所示那样是伸展的，分子的主链可能在某个位点发生了转折。根据 NOE 相关信息判断，转折位点可能发生在 C_{22}。这个假设被进一步的分子溶液构象的计算机模拟的结果所证实，将上述观测到的分子内 NOE 相关信息作为约束，对分子的三维溶液构象进行动力学模拟，然后进行能量优化。得到的结果表明分子确实在空间发生了折叠，转折点在 C_{22}。不仅如此，折叠了的分子还进一步折叠，呈抱球状，犹如网球。分子的主链在空间的走向犹如网球的缝合线，主链上的羟基和氧原子大多向内指向球心，由 C、H 链构成的表面呈疏水性。

RVA18 分子的上述特征构象为其特异的理化性质和生理活性提供了圆满的解释。RVA18 分子内含有 14 个氧原子，按理分子应具有较强的极性。但是，在分离过程中，该化合物显示极性不高，并能够溶解于氯仿等酯溶性溶剂中。采用分子模拟与显示技术对该分子的溶液构象进行模拟计算，结果表明分子构象呈球形，其分子内含氧基团中的氧原子指向分子中心，并与金属离子配位络合，将金属离子包络在球形分子的中心。分子的 C 骨架回绕着球心排布，其走向恰似网球表面两个皮块的缝合线。由于分子内的极性基团汇聚在分子内部，而疏水的碳氢链包复在分子表面，因此分子显示一定的疏水性。该化合物显示很强的抗革兰氏

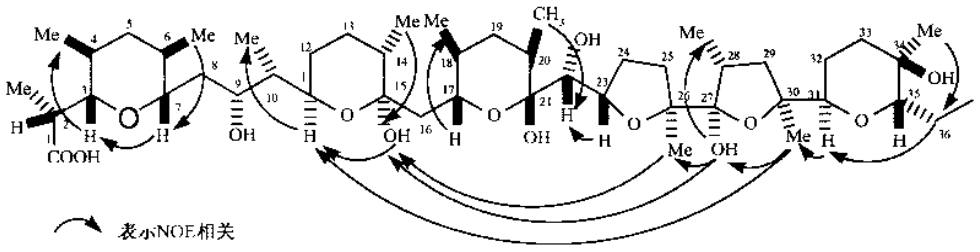


图 3-69 RVA18 的分子内 NOE 相关

阳性和革兰氏阴性细菌，其作用机制可以认为该化合物作为离子运载体，能够干扰金属离子在细胞内外的正常传输，破坏正常的细胞功能。显然该化合物的离子运载体功能是与其三维溶液构象不可分割的。

上述就是从头开始的 RVA18 多醚类抗生素结构解析的全过程，这个过程可以大致归纳为以下几个步骤：

1）通过^{1}H-NMR、^{13}C-NMR、DEPT 谱分析，结合质谱、红外、紫外与可见光谱等的信息，确定化合物的相对分子质量、分子式和化合物类型。

2）采用 DQF-COSY、TOCSY 等实验对分子内质子的自旋偶合链进行详尽的分析，完成对^{1}H-NMR 信号的归属。

3）通过 HMQC 实验获得分子的$^{1}J_{CH}$相关信息，利用步骤 2 得到的信息对接氢 C 信号进行归属，并将分子内质子的自旋偶合链转变成为分子部分构造的 C 骨架。

4）采用 HMBC 实验检测分子内的$^{2}J_{CH}$和$^{3}J_{CH}$相关信息，利用$^{2}J_{CH}$和$^{3}J_{CH}$相关信息进行跨越非接氢 C 原子和杂原子的连接，完成季碳原子的信号归属。

5）通过 NOESY（或 ROESY）实验检测质子间的 NOE 相关，利用 NOE 提供的通过空间的连接信息，补充和完善分子的平面构造解析，在此基础上进一步讨论分子的相对构型和溶液构象等立体化学问题。

上述 5 个步骤可以认为是天然产物系统结构解析法的核心内容。余下的问题是绝对立体化学，如果分子内有手性中心，需要确定其绝对构型。需要说明的是，虽然 NMR 方法能够对分子的相对构型和溶液构象能够提供大量重要的，甚至是关键性的信息，但是 NMR 方法对于解决绝对立体化学问题只能发挥非常有限的作用。原则上讲，NMR 方法不能决定分子中手性中心的绝对构型，也无法区分对映体（即不能说明手性化合物是以对映混合物存在还是以纯对映体存在）。如果一个分子中有多个手性中心，非对映异构体显示非对映化学位移。在一个分子中不对称 C 原子的存在可以由非对映化学位移反映出来，其绝对构型可以通过比较非对映化学位移做经验性测定。NMR 方法处理绝对立体化学问题需要外来的参照标准。如果一组非对映异构体中有一个化合物已通过单晶 X 射线衍射方法或 CD 光谱测定了绝对构型，以这个化合物的化学位移作为参照标准，通过比较非对映化学位移，就可以对这组非对映异构体的其他化合物的绝对构型作经验性测定。

也可以采用已知绝对构型的手性试剂，如纯的手性溶剂和手性位移试剂作为参照标准，这个方法常常用于对映体纯度（ee 值）。这个方法的实质是用一个手性试剂把消旋混合物转化成非对映异构体，或者把样品溶解在一个纯的手性溶剂 R 或 S 中，把消旋混合物（RP + SP）转化成溶剂化的非对映异构体 R:RP 和 R:SP，根据它们的不同化学位移，可以被识别。评价对映体过量的 ee 值由下式决定

$$ee = ([R] - [S])/([R] + [S]) \times 100\%$$

带有影响化学位移取代基的化合物适宜于用作手性溶剂，如苯基乙胺、2,2,2-trifluro-1-phenylethanol 等。

一个采用 NMR 测定非对映体纯度的可靠方法是运用 Eu 和 Pr 螯合剂作为手性试剂，它们与消旋化合物生成非对映螯合物，两个非对映异构体的化学位移是不同的。对于靠近配位基团（如 OH、NH_2 和 C═O）的核 R 和 S 会显示不同的化学位移，并且随着位移试剂的浓度的增加，信号分离也增加。遗憾的是，随位移试剂浓度的增加由于顺磁离子的作用，信号也会变宽，这限制了可用位移试剂的量。

五、天然产物结构系统解析法的应用实例

前一节，以多醚类抗生素 RVA18 为例介绍了天然产物结构的系统解析方法，多年来这个方法已在许多天然产物的结构测定中取得了成功，包括萜类、甾体、生物碱、黄酮和以这些化合物为苷元的植物配糖体、寡糖、糖肽，以及环肽、大环内酯、多醚类抗生素等。其中特别是植物配糖体、寡糖和糖蛋白中的糖肽是近年来中草药研究中最常见的活性成分。随着分离纯化技术的发展，发现的这类化合物越来越多，越来越复杂。分子内的糖链常常是包含 4 个以上糖残基的杂寡糖，有的分子包含有两个糖链，包含的糖残基数甚至多达 8～10 个。这些化合物中糖链的结构往往十分复杂，要解决的结构问题包括决定糖残基的种类、数量、异头碳构型、糖残基连接序列和方式、糖基化位点和有无附加基团等，代表了一类特定的结构问题。笔者等曾在苦瓜子(*Momordica charantia* Linn)糖蛋白 β-momrorchrin(β-MMC，一种核糖体失活蛋白)寡糖链结构研究中尝试采用这种从头开始的结构解析方法，并取得了成功。不仅一举测定了由 6 个残基(2 个 *N*-乙酰基氨基葡萄糖、2 个甘露糖、1 个岩藻糖和 1 个木糖)组成的杂寡糖链的结构，并且为决定该糖链在糖蛋白中的糖基化位点提供了关键的信息。苦瓜子糖蛋白的寡糖链结构的 NMR 研究已收在《天花粉蛋白》一书中，该书还介绍了寡糖链结构的系统解析方法，可供有兴趣的读者参阅[22]。这个方法后来在一系列植物配糖体的结构研究中得到了广泛的应用，包括中药山甘草[23～28]、海南牛奶菜[29～30]、紫菀[31～35]、威灵仙[36～37]和王不留行等[38～41]中的植物配糖体的结构测定。近年来，在另一个核糖体失活蛋白——香樟子蛋白(cinnamomin)的糖链结构研究中进一步得到应用，测定了三个高甘露糖型的糖肽链的结构，最复杂的一个糖肽链由 8 个糖残基(包括 2 个 *N*-乙酰基氨基葡萄糖、6 个甘露糖)和 4 个氨基酸组成[42]。

另一类有兴趣的天然产物是环肽，这类化合物往往具有较好的生物活性，以往在微生物代谢产物和海洋天然产物中较为多见。近年来，这类化合物在中草药中屡有发现。多肽的一级结构(氨基酸顺序)测定已有成熟的方法，采用 Edmann 降解方法，用氨基酸顺序仪简单地可从氨端直接测定，对于微量成分，也可采用串联质谱的方法测定。但是由于环肽是环状的分子，分子内既无氨端，也无羧端，采用上述方法测定其氨基酸顺序存在一定困难。因此，天然环肽的结构测定也代表了近年来天然产物结构测定中的另一类典型的结构问题。考虑到大多数其他种类的天然产物结构解析的例子已在本书的相关章节中做了详细介绍，为节省篇幅，在此不再细述。本章拟选择植物配糖体和环肽两类化合物为例，对从头开始的寡糖链结构系统解析方法和环肽结构的系统解析方法作进一步的介绍。

1．寡糖结构的系统解析方法

采用核磁共振波谱的寡糖链结构系统解析方法主要由以下两个部分组成：① 糖残基自旋系统的识别与归属及糖苷键构型的确定；② 糖残基一级顺序与糖基化位点测定。

糖残基自旋系统的识别与归属的基本原理如图 3-70 所示。组成寡糖、植物配糖体和糖蛋白的糖残基大多为吡喃糖型，它们在分子中一般以椅式构象存在，糖环上取代的羟基或质子一般垂直(axial)或水平(equatorial)取向于糖环平面，相应可分为竖键(a 键)或平键(e 键)两种。各种不同糖残基的差别就在于糖环的立体化学，即糖环上羟基的取向不同，如葡萄糖分子中糖环上的羟基都为平键，质子都为竖键。如果糖环 4-位羟基变为竖键即为半乳糖，3-位羟基为竖键成为阿洛糖，而 2 位羟基为竖键便成为甘露糖。从这四种常见的糖残基骨架可以派生出多种不同的糖残基，如属于葡萄糖类型的残基还有葡萄糖醛酸(6-位次甲基氧化成羧基)和木糖(可看成 6-位进一步氧化脱羧的产物)；属于半乳糖类型的残基有岩藻糖(6-位还原产物)和阿拉伯糖(可看成 6-位氧化脱羧的$^1C_4$ pyranose)；属于阿洛糖型的有核糖(6-位脱羧产物)；属于甘露糖型的有鼠李糖(6-位还原产物)和来苏糖(6-位脱羧产物)等。此外，由于异头质子的取向不同，各种残基的糖苷键可分为 α-(异头质子取平键)和 β-(异头质子取竖键)两种构型。

不同的糖残基具有不同的立体化学，在二维核磁共振波谱中显示不同的自旋系统和偶合形态，因此各种糖残基的质子化学位移相关图式是糖链结构分析的有力工具。例如，在 β-葡萄糖型残基中的质子都是反式竖键，相邻糖环质子间(H_1/H_2、H_2/H_3、H_3/H_4、H_4/H_5)的偶合常数为 7～10 Hz。因此，在 DQF-COSY 谱中相邻质子间都有强的偶合相关峰，而在 TOCSY 谱中异头质子信号不仅显示与 2-位质子间的直接偶合相关峰，

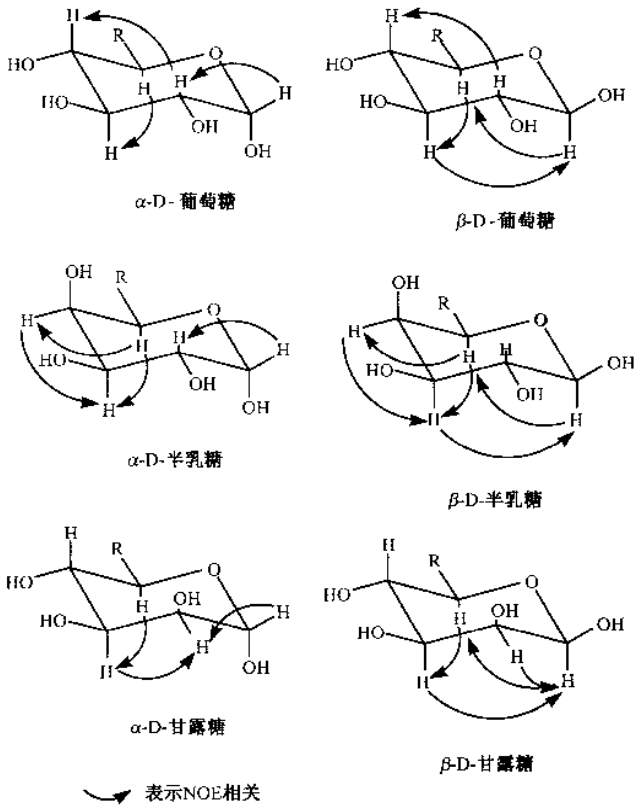


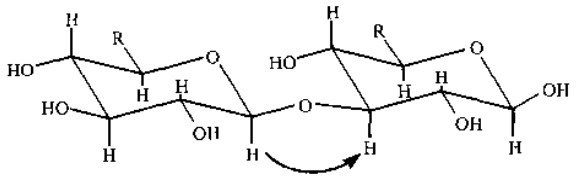
图 3-70 各种吡喃糖的结构特征

而且在 TOCSY 实验中能通过自旋锁定传递给其余的糖环质子，异头质子信号还显示出与 3,4,5-位质子间的接力相关峰。如果各向同性混合时间足够长，乃至与 6-位质子间的接力相关峰也能显示出来。如果一个糖残基的质子自旋系统在 DQF-COSY 和 TOCSY 谱中显示上述特征，就可以将其归属为葡萄糖类型的残基。半乳糖型残基由于其 4-位质子为平键，4-位质子与 3-位和 5-位质子间的偶合常数一般小于 4Hz，因此，在 DQF-COSY 谱中 4-位质子与 3-位或 5-位质子间的偶合相关峰就很弱。在自旋锁定的条件下异头质子的磁化矢量在自旋偶合体系中的传递往往中止在 4-位，也就是说在 TOCSY 谱中异头质子信号除显示与 2-质子的直接偶合相关外，只显示与 3-位和 4-位质子的接力相关峰，并且在一维氢谱和二维 TOCSY 谱中 4-位质子信号的线形很窄。这一偶合相关形态非常特征，很容易辨认，可据此将该残基归属为半乳糖类型的残基。相应地，阿洛糖的 3-位质子为平键，2/3 位质子和 3/4 位质子间的偶合常数较小，3-位质子信号线形很窄，在 TOCSY 谱中异头质子只出现与 3-位质子间的接力相关峰。甘露糖的 2-位质子为平键，因此在 TOCSY 谱中只出现异头质子与 2-位质子间的直接偶合相关峰，不出现与其他糖环质子的接力相关峰，或只出现很弱的与 3-位质子间的相关峰，图形非常特征，极其容易辨认。因此，TOCSY 谱在糖残基自旋系统的识别与归属方面特别有用，只要分析 TOCSY 谱中从每个异头质子信号开始的亚谱，根据异头质子磁化矢量在自旋锁定条件下沿偶合链传递的远近，即接力相关峰的数量以及最后一个相关峰的线形宽窄就能确定糖残基的类型。进一步与 DQF-COSY 谱配合进行比较分析就能归属该残基中各别糖环质子信号。

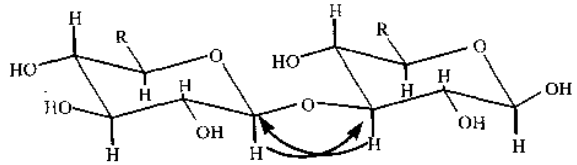
糖残基的种类还能从糖环质子间的空间关系来确定。分子内质子与质子间空间相互接近会产生核交叉弛豫现象，称之为 NOE(nuclear overhause effect)，因此在其 NOESY 谱中相应的质子信号之间会产生 NOE 交叉峰。例如，β-葡萄糖的糖环质子都是反式竖键，因此在其 NOESY 谱中相邻质子间不出现 NOE 相关峰，而间位质子间如 1/3 位 3/5 位和 1/5 位质子间以及 2/4 位质子间由于空间距离的接近，会有 NOE 相关峰出现。对于 β-半乳糖类型的残基，除了 1 位、3 位与 5 位质子间有 NOE 相关峰出现之外，其特征是 3/4 位以及 4/5 位相邻质子间有 NOE 相关峰出现。对于 β-阿洛糖类型的残基，特点是缺少 3/5 位质子间的 NOE 效应，

取而代之的是2/3位和3/4位质子间的NOE相关峰。β-甘露糖类型残基的特征是NOESY谱中除了1/3位、3/5位和1/5位质子间相互有NOE相关峰出现之外，其2/3-位质子间有NOE相关峰出现。对于α-构型的糖残基，由于其异头质子取平键，相应地其NOE图式有所不同，但其基本特征不变。根据这些谱学特征，可以对采用DQF-COSY和TOCSY实验归属的各类糖残基自旋系统进一步进行确认。在确定糖残基自旋系统的类型以后，进一步考察残基内其质子信号的数量和化学位移便能确定其是否是标准的吡喃糖或者是末端还原糖(如岩藻糖或鼠李糖)抑或是末端脱羧的五碳糖(木糖、阿拉伯糖或核糖等)。

糖残基一级顺序与糖基化位点测定的原理如图3-71所示。首先，糖残基一级顺序与糖基化位点最直接的结构证据是糖残基异头质子与糖基化位点质子间的空间相互接近[图3-71(a)]，它们在NOESY谱中会显示残基间NOE相关信号。因此，通过分析NOESY谱中异头质子与相关残基间的NOE相关信号，就能得到糖残基顺序和糖基化位点的信息。糖残基一级顺序与糖基化位点的另一个重要结构证据来自跨越糖苷键的^{1}H-^{13}C远程相关($^{3}J_{CH}$)，即异头H与糖基化位点的C原子或异头C与糖基化位点的H原子之间相隔三键的远程相关信息[图3-71(b)]。这种^{1}H-^{13}C远程相关偶合常数($^{3}J_{CH}$)的大小取决于糖苷键的扭转角，即C_A—O—C_B—H或H—C_A—O—C_B(C_A和C_B分别为异头C和糖基化位点C原子)构成的二面角的大小，其值一般在3～12Hz。跨越糖苷键的^{1}H-^{13}C远程相关信息可方便地通过HMBC实验得到，选择适当的偶合常数，完成1～2个HMBC实验，仔细地分析与异头质子或异头C原子相关的残基间^{1}H-^{13}C远程相关信息，就能够决定糖残基一级顺序与糖基化位点。由于糖链具有高度的柔性，糖苷键的构象富于变化，每个糖苷键的扭转角各异。在实际的寡糖和植物配糖体的结构测定中，常常不可能一次得到全部糖残基间的NOE相关和跨越糖苷键的^{1}H-^{13}C远程相关信息。因此通常将两种方法得到的结果进行相互补充，互相印证。此外，最终得到的糖残基一级顺序与糖基化位点还可以通过糖环C信号的糖基化位移加以验证。



(a) 残基间NOE相关



(b) 残基间C-H远程相关

图3-71　用于建立糖残基连接顺序的结构信息

(1) 麦仙翁苷A的结构测定[43]

植物麦仙翁(*Agrostemma githago*)是我国北方麦地里生长的一种有毒的杂草。牛、羊和马等家畜误食后会引起中毒。民间长期的观测发现该草对小麦的生长有促进作用，提示该植物可能含有植物他感作用(allelopathic)物质。在生物活性跟踪条件下的分离发现，具有他感作用(促进水稻、小麦等作物增产)活性的组分是三萜总皂苷。多年的田间试验证实，在小麦和水稻等主要作物的不同生长期，用万分之二浓度的总皂苷水溶液进行叶面喷洒，能够大幅度增加产量。进一步对总皂苷进行分离，从中分离纯化得到8种新颖的三萜皂苷类化合物，采用近代波谱技术和化学转化方法测定其结构，其中麦仙翁苷A分子内含有两个糖链，总共包含8个糖残基，分别以醚键和酯桥键连接于3位和28位，其结构极其复杂。

麦仙翁苷A(agrostemmoside A)通过HPLC分离纯化得到，为无定形白色粉末。对Liebermann-Burchard

反应呈阳性，Dragendorff 试验呈阴性。它的电喷雾质谱(ESI-MS)显示准分子离子$[M+Na]^+$峰(m/z 1724)，负离子快原子轰击质谱(FAB-MS)显示$[M-H]^-$峰(m/z 1700)。考虑到分子内有 120 个氢原子，其准分子离子峰的质量数可能会高于计算质量一个质量单位，且分子内不含氮原子，判断相对分子质量为 1700。结合后面进行的^1H 和^{13}C-NMR 信号的初步分析分子式估计为 $C_{77}H_{120}O_{41}$。图 3-72 和图 3-73 分别是麦仙翁苷 A 的^1H 和^{13}C-NMR 谱图，测定用的溶剂是氘代吡啶。在^1H-NMR 谱图的低场有 1 个醛基质子信号(δ 9.98)，高场有 6 个连接于季碳原子的甲基信号(δ 0.82、0.87、0.88、1.04、1.215 和 1.468)、2 个连接于叔碳原子的甲基信号(δ 1.21，1.68，可能属于 6 位还原糖的末端甲基)和 1 个乙酰基甲基信号(δ 2.09)。谱图的中间(δ 3.2～6.2)区域显示大量的糖环质子信号，在 δ 5～6 区域显示一个巨大的水峰，它与分子内的异头质子信号以及烯质子信号重叠。此外，由于样品分子的弛豫特性不良，信号明显钝化，信号分辨率较差。在^{13}C-NMR 谱图的低场部分包含有一个醛基 C(δ 210.1)信号、一个羧基 C(δ 176.3)信号、一个酯基C(δ 171.1)

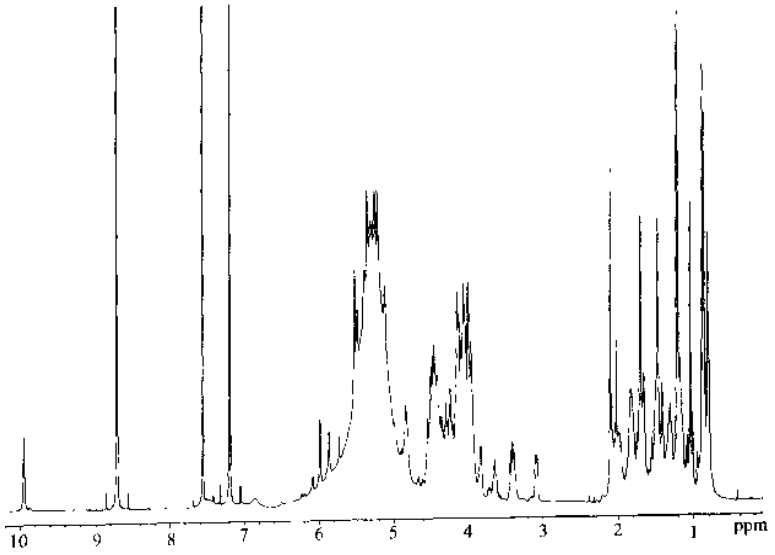


图 3-72 麦仙翁苷 A 的^1H-NMR 谱

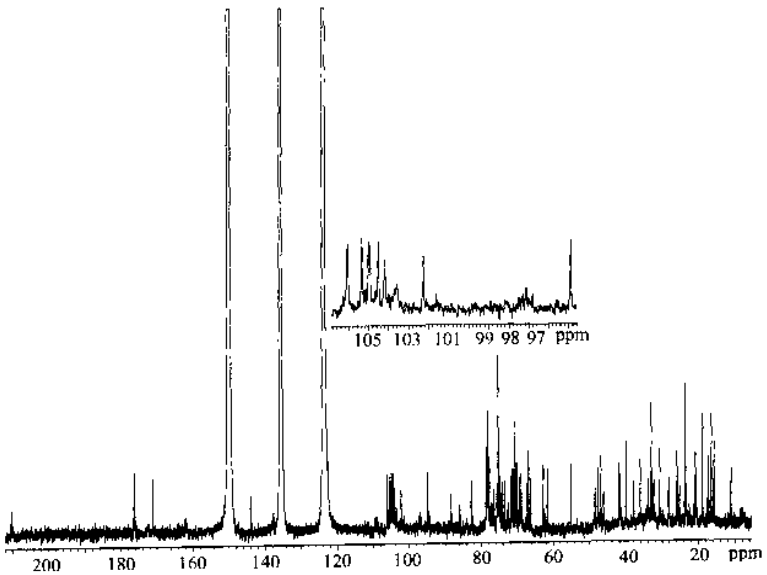


图 3-73 麦仙翁苷 A 的^{13}C-NMR 谱

信号和一个三取代的乙烯基C(δ 122.4,144.1)信号。在谱图的中部(δ 60～108)显示出42个接氧C信号，其中δ 94～106区域有8个异头C信号，提示有8个糖残基存在。其余的高场信号可归属为苷元部分构造。根据甲基信号的数量、醛基和一个三取代双键的存在，以及苷元部分的^{13}C-NMR信号与已知苷元的^{13}C-NMR信号的比较，苷元可鉴定为丝石竹皂苷元类型的三萜(三萜苷元部分的构造解析本书的其他有关章节已有介绍，这里不再重复。本节重点介绍糖链结构的解析)。扣除三萜苷元部分的^{1}H和^{13}C-NMR信号，其余的NMR信号可归属为分子内的寡糖链部分。前述的接氧叔碳原子上的甲基信号(δ 1.21,1.68)提示可能有6位还原的糖残基，如岩藻糖或鼠李糖存在，而^{13}C-NMR谱图中羧基C信号表明，分子内可能有葡萄糖醛酸存在。因此，余下的问题就是测定分子中糖链的结构和糖基化位点。

分子内糖链的结构解析首先从异头质子和异头碳信号的归属开始，由于糖异头CH信号处于低场，远离其他糖环CH信号，常常分辨良好，而且可以通过HMQC谱容易地归属。图3-74显示麦仙翁苷A的HMQC谱图中的糖残基异头C—H相关信号，借此可以容易地确定分子内的8个异头质子信号，分别标志为H_{A1}～H_{H1}。这个区域余下的一个信号(δ 5.357)可归属为烯质子。归属了异头质子信号之后，就可以利用各种2D-NMR实验解析糖残基的种类，连接顺序和糖基化位点。图3-75和图3-76分别为麦仙翁苷A的糖环质子部分的DQF-COSY和TOCSY谱，对照这两个谱图的相应部分，即可做出各个残基糖环质子的信号归属。具体的方法是选择异头质子作为解析的起点，首先解析异头质子的接力相关信号。对照DQF-COSY谱中的相关峰，确定TOCSY谱中相关峰的接力相关顺序。对于葡萄糖和木糖等残基(包括葡萄糖醛酸)，如果自旋锁定的时间足够长，从异头质子开始的接力相关转移常常可以达到糖环的末端，显示出所有的接力相关信号。对于甘露糖和鼠李糖等残基，由于其2位质子为平键，其相应位点的质子间偶合常数值小于4Hz，磁化的接力相关转移会在该位点中断。对于半乳糖和岩藻糖等残基，其4为质子为平键，磁化的接力相关转移会在该位点中断。借此，可以做出相应的归属。在这些情况下，其余糖环质子的归属可从下一个质子的信号开始。对于6位还原的糖残基，如岩藻糖和鼠李糖等，其末端甲基信号比较特征，也可作为解析的起点，进行从末端向异头质子方向的接力相关转移分析。把两个方向分析的结果归纳起来就能够达到完整的残基内糖环质子的信号归属。此外，吡喃糖的5位质子常常处于较高场，如果其信号分辨情况良好，又不与其他信号重叠，常常也可作为解析的起点。必要的时候，还可以借助于NOESY谱提供的通过空间的连接信息，帮助归属。例如，由于吡喃糖椅式构象的特点，其处于竖键的1位、3位和5位质子间有较强的NOE。又如半乳糖和岩藻糖，其4位质子处于平键，其3/4位和4/5位质子间有NOE相关。相应地甘露糖和鼠李糖的1/2位和2/3位质子间也有NOE相关。这些都是帮助归属的有用信息，可以合理地使用。

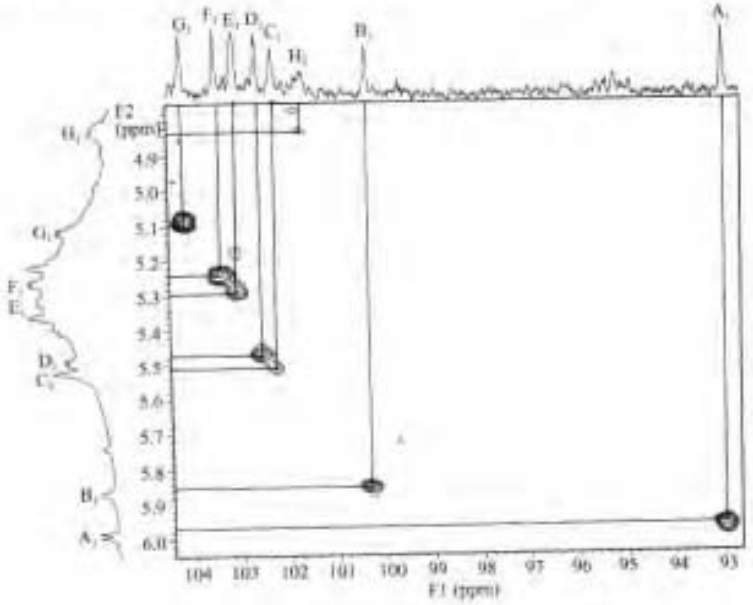


图3-74　麦仙翁苷A的HMQC谱低场局部放大图

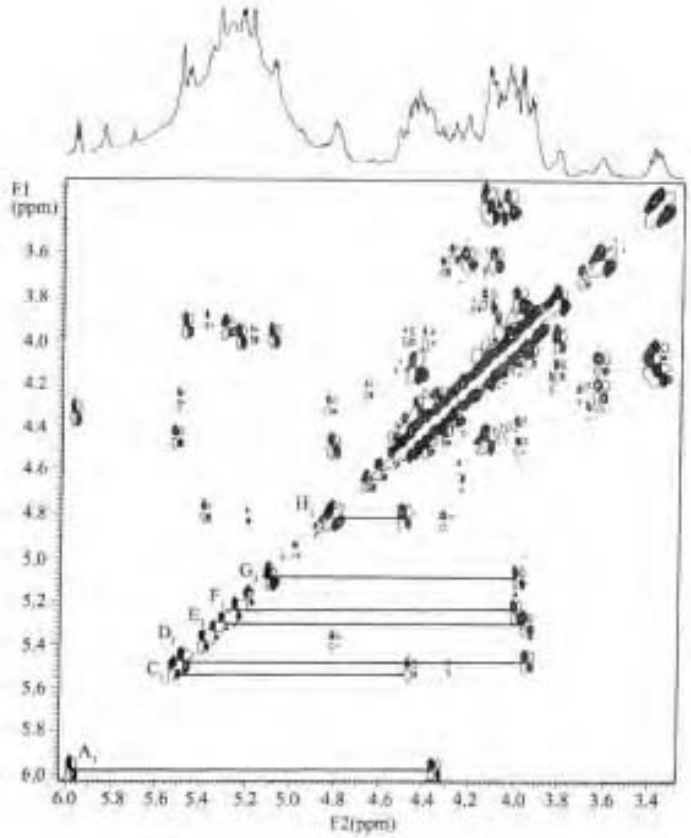


图 3-75 麦仙翁苷 A 的 DQF-COSY 谱低场(糖基部分)放大图

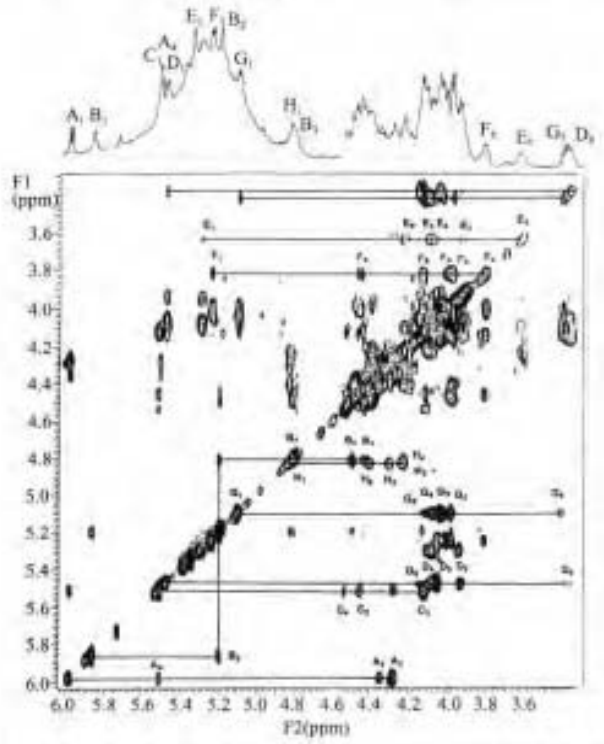


图 3-76 麦仙翁苷 A 的 TOCSY 谱低场(糖基部分)局部放大图

例如，从异头质子 H_{A1} 出发，对照 DQF-COSY 谱图的相关信号，在 TOCSY 谱图上即可识别糖环质子 H_{A2}、H_{A3} 和 H_{A4}、H_{A1} 的磁化的接力相关转移在 H_{A4} 终止，而且 H_{A4} 信号很窄，表明该质子处于平键，提示该残基的 4 位羟基为竖键，也即残 A 基可能为半乳糖或岩藻糖。此外，残基 A 的 4 位质子（H_{A4}）出现在较低场，提示其 4 位可能有乙酰基取代。在 TOCSY 谱图中异头质子 H_{B1} 仅显示与糖环质子 H_{B2} 的相关，且 H_{B2} 信号的线形很窄，提示该 H 处于平键。H_{B2} 进一步显示与 H_{B3} 的偶合相关，以及与 H_{B4}、H_{B5} 间的接力相关。H_{B5} 显示与一个高场甲基信号（δ 1.68）相关，这些信息提示残基 B 为鼠李糖。异头质子 H_{C1} 显示与 H_{C2} 的偶合相关，以及与 H_{C3}、H_{C4} 间的接力相关。同样，H_{C4} 线形很窄，提示该质子为平键，残基 C 可能为半乳糖。异头质子 H_{D1} 显示与 H_{D2} 的直接偶合和与残基内所有其他质子间的接力相关，其中 H_{D5} 与 $H_{D5'}$ 为孪生质子，表明该残基为木糖。糖残基 E 和 F 的异头质子信号 H_{E1} 和 H_{F1} 十分靠近，从它们引出的接力相关峰也十分靠近，有些相互重叠，不易分辨，可改从这两个残基中分辨良好的糖环质子 H_{E5} 和 H_{F5} 开始解析。H_{E5} 显示与 $H_{E5'}$，H_{E4}，H_{E3}，H_{E2}，H_{E1} 间的偶合相关峰，其中 $H_{E5'}$ 与 H_{E5} 是孪生质子，表明该残基为木糖。H_{F5} 显示与 $H_{F6'}$、H_{F6}、H_{F5}、H_{F4}、H_{F3}、H_{F2}、H_{F1} 间的偶合相关峰，其中 $H_{F6'}$ 与 H_{F6} 是孪生质子，表明该残基为葡萄糖。异头质子 H_{G1} 显示与 H_{G2}、H_{G3}、H_{G4}、H_{G5}、$H_{G5'}$ 间的偶合相关峰，其中 $H_{G5'}$ 与 H_{G5} 是孪生质子，表明该残基是另一个木糖。异头质子异头质子 H_{H1} 显示与 H_{H2}、H_{H3}、H_{H4}、H_{H5} 间的偶合相关峰，由于这些信号中没有孪生质子，且 H_{H5} 出现在较为低场，残基 H 可能为葡萄糖醛酸。通过上述分析可以确定麦仙翁苷 A 的 8 个糖残基分别为 β-D-岩藻糖（残基 A）、α-L-鼠李糖（残基 B）、β-D-半乳糖（残基 C）、β-D-木糖（三分子，残基 D、E 和 G）、β-D-葡萄糖（残基 F）和 β-D-葡萄糖醛酸（残基 H）。至此，每个糖残基的 ^{1}H 共振信号得到归属，进一步分析其 HMQC 谱提供的 $^1J_{CH}$ 相关信息，其所有残基的糖环 ^{13}C-NMR 信号也可得到明确的归属。同时根据各个残基的异头 C 原子的化学位移和异头质子的偶合常数，不难对其糖苷键的构型做出判断。

图 3-77 为麦仙翁苷 A 的 NOESY 谱低场（糖基部分）局部放大图，它提供了糖环质子的残基内的和残基间 NOE 相关。糖残基内的 NOE 相关不仅能够提供有关糖残基相对立体化学的信息，并且可为归属残基内采用 COSY 和 TOCSY 谱未能归属的质子信号提供有用的信息，而残基间的 NOE 相关可为测定糖残基的连

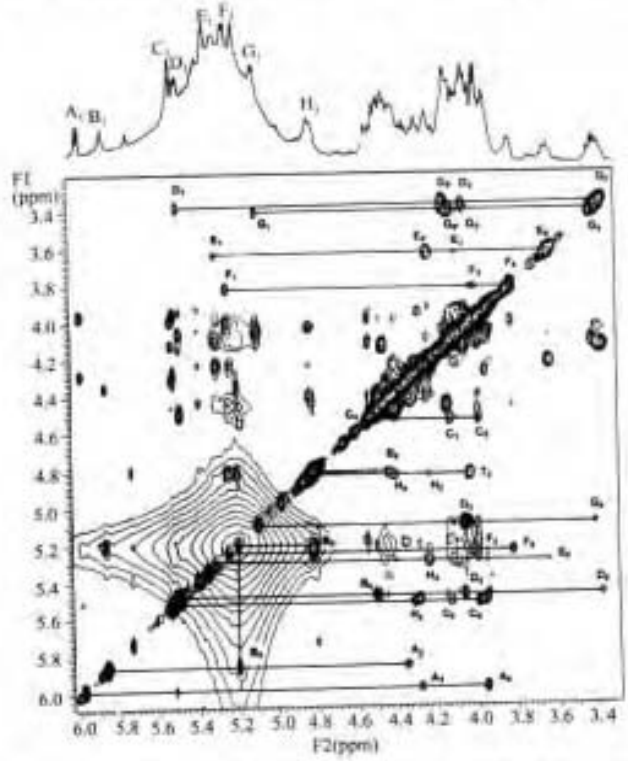


图 3-77　麦仙翁苷 A 的 NOESY 谱低场（糖基部分）局部放大图

接顺序和糖基化位点提供关键性的信息。因此，在 NOESY 谱的解析中应首先区分残基内的和残基间的 NOE 相关，并特别重视异头质子显示的 NOE 相关信号。例如，残基 A 的异头质子 H_{A1} 显示与糖环质子 H_{A3} 和 H_{A5} 的 NOE 相关。由于 H_{A4} 处于平键，H_{A4} 与 H_{A3} 和 H_{A5} 间的偶合常数很小，从 H_{A1} 开始的接力相关在 H_{A4} 中断。因此，在 TOCSY 谱中 H_{A5} 质子未能做出归属，而在这里得到归属。H_{A5} 在 DQF-COSY、TOSCY 和 NOESY 中都显示与高场甲基信号(δ 1.21)的相关，H_{A5} 的归属得到进一步的证实。另外，仔细分析可以发现，残基 A 的 4 位质子 H_{A4} 也显示与 H_{A3}、H_{A5} 之间的残基内 NOE 相关，也进一步证实它为岩藻糖。因此，残基 A 可归属为岩藻糖。需要注意的是，H_{A1} 未显示残基间的 NOE 相关，同时其异头 C 信号的化学位移特异性地移向高场(δ 94.9)，提示该残基可能以酯桥键连接于苷元的 28 位。残基 B 的异头质子 H_{B1} 只显示与 H_{B2} 的残基内的 NOE 相关，进一步证实残基 B 为 L-鼠李糖。此外，H_{B1} 还显示与 H_{A2} 的残基间的 NOE 相关，提示残基 B 连接于残基 A 的 2 位。残基 C 的异头质子 H_{C1} 显示与 H_{C3} 和 H_{C5} 的残基内的 NOE 相关和与 H_{B2} 的残基间的 NOE 相关，提示残基 B 连接于残基 H 的 2 位。另外，显示与 H_{C3}/H_{C4} 和 H_{C4}/H_{C5} 之间的残基内 NOE 相关，进一步证实残基 C 为半乳糖。其余残基的 NOE 相关分析比较简单，残基 D 的异头质子 H_{D1} 显示与 H_{D3} 和 H_{D5} 的残基内的 NOE 相关和与 H_{B4} 的残基间的 NOE 相关，提示残基 D 连接于残基 B 的 4 位。残基 E 的异头质子 H_{E1} 显示与 H_{E3} 和 H_{E5} 的残基内的 NOE 相关和与 H_{D3} 的残基间的 NOE 相关，提示残基 D 连接于残基 H 的 3 位。残基 F 的异头质子 H_{F1} 显示与 H_{F3} 和 H_{F5} 的残基内的 NOE 相关和与 H_{B3} 的残基间的 NOE 相关，提示残基 F 连接于残基 B 的 3 位。类似地可以确定糖残基 G 连接与残基 D 的 3 位，残基 H 连接与苷元的 3 位。归纳 NOESY 谱分析得到的结果，分子中的两个糖链分别为 β-Xyl-1-(β-Gal1-2)-3-β-GlcA1-3-aglicone 和 β-Xyl1-3β-Xyl1-4-(β-Glc1-3)-Rha1-2Fuc1-28-aglicone。

通过 NOESY 谱分析得到的糖残基顺序和糖基化位点还可以进一步采用跨越糖苷键的 C—H 远程相关信息进行验证。图 3-78(a)为麦仙翁苷 A 的 HMBC 谱中异头 H 与糖基化位点 C 之间相关的放大图，图中显示 D_{1H}/B_{4C}、F_{1H}/B_{3C}、G_{1H}/D_{3C} 等异头氢与糖基化位点碳之间相关。图 3-78(b)显示异头质子 H_1 与苷元 28 位羰基碳原子之间的远程相关，为由 5 个残基组成的较长的糖链在苷元上的糖基化位点提供了直接的证据。此外，还显示糖环质子 H_{A3} 与乙酰基羰基碳原子间的远程相关，进一步证实岩藻糖的 4 位有乙酰基附加基团存在。通过以上分析可以确定麦仙翁苷 A 分子中的糖链的结构如图 3-79 所示。

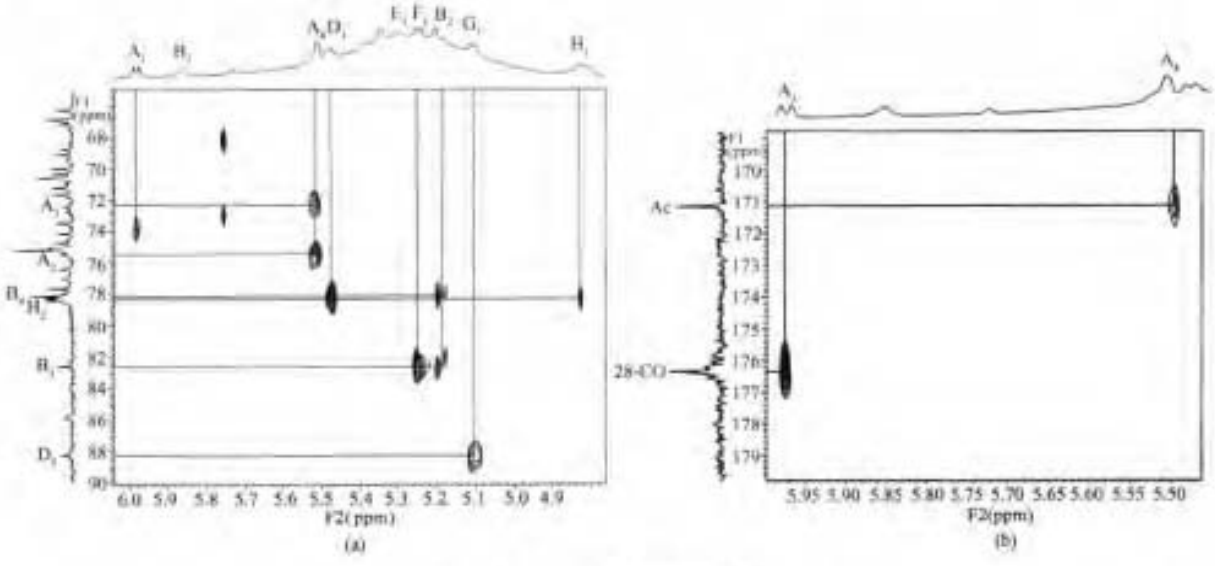


图 3-78 麦仙翁苷 A 的 HMBC 谱

(2) 麦仙翁苷 B 的结构测定

在用系统解析方法对麦仙翁苷 A 进行结构解析时，我们注意到：测定溶剂氘代吡啶中含的水峰与异头

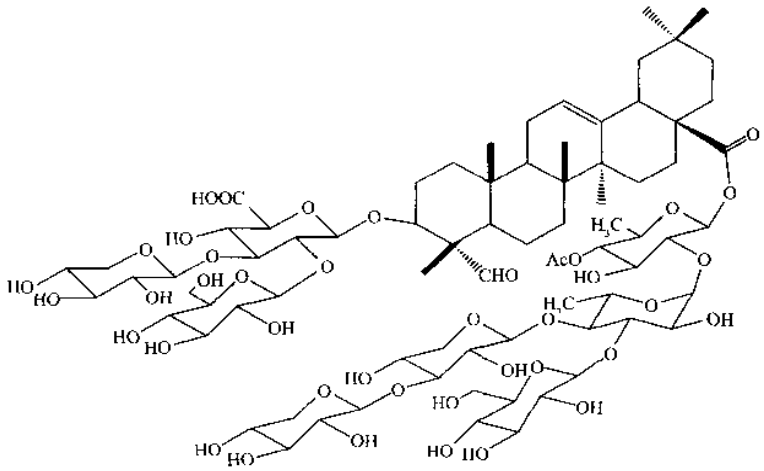


图 3-79　麦仙翁苷 A 的结构

质子信号重叠十分严重，而且由于样品的弛豫性质不佳，部分 C，H 信号如（H_{B1}、H_{E1}、H_{H1} 和 C_{H1} 等）线形不良，给结构解析带来一定的困难。这种情况在麦仙翁苷 B（agrostemmoside B）的结构解析中尤为严重。图 3-80是麦仙翁苷 B 的 ^{1}H-NMR 谱，图中显示巨大的水峰。麦仙翁苷 B 的 ^{13}C-NMR 谱（图 3-81）与麦仙翁苷十分相似，同样包含有一个醛基、一个羧基和两个酯基 C 信号，提示麦仙翁苷 B 可能含有与麦仙翁苷 A 相同的苷元、乙酰基和葡萄糖醛酸等结构单元。糖环部分比麦仙翁苷 A 少 5 个接氧碳原子信号，提示麦仙翁苷 B 分子比麦仙翁苷 A 少一个糖残基。麦仙翁苷 B 的相对分子质量为 1571，与麦仙翁苷 A 相比低 132，其差值相当于一个五碳糖。图 3-82 是麦仙翁苷 B 的 HMQC 谱的低场放大图，由于部分异头氢信号的严重钝化，图中异头碳 C_{C1}、C_{F1} 和 C_{G1} 等未显示交叉峰，因此，无法对其异头质子信号做出准确归属。图 3-83 是麦仙翁苷 B 的 TOCSY 谱的糖环质子区放大图，图 3-83 中只显示糖环 A、B、D、E 和 H 的相应质子自旋系统，糖环 C、F 和 G 的质子自旋系统无法辨认。于是我们采用了一个新的途径，即先进行完全乙酰化（peracetylation），把天然皂苷转变成为其过乙酰化衍生物，然后再用从头开始的结构解析方法，测定其结构。这个方法的好处是所

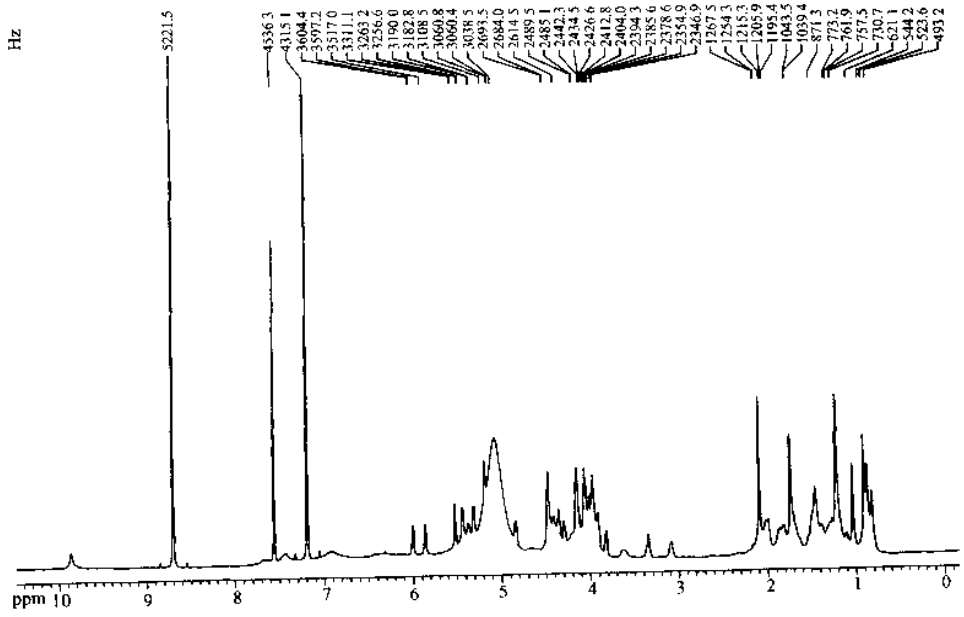


图 3-80　麦仙翁苷 B 的 ^{1}H-NMR 谱

有糖残基中非糖基化位点的羟基都被乙酰化，这些位点的糖环质子的化学位移都向低场移动，而原先的糖基化位点未被乙酰化，其糖环质子的化学位移变化不大。这样糖基化位点的糖环质子和乙酰化位点的糖环质子由于化学位移的不同，得到有效的分离，相应地糖环质子归属、糖残基的顺序和糖基化位点就比较容易。另一个有利之处是，天然的皂苷化合物由于极性大，NMR 测定大都以吡啶为溶剂。在高黏度的吡啶溶剂中，样品分子的弛豫性质不佳，质子共振信号的线形（分辨率）较差。此外，吡啶中残留的水信号出现在 δ 4.6～4.8区域，并且线形非常宽，往往会掩盖对于结构解析极其重要的糖残基异头质子信号，而天然皂苷过乙酰化后极性大大降低，极易溶解于氯仿中。氘代氯仿的黏度低，样品分子的弛豫性质好，共振信号的线形好，谱图分辨率好。而且氘代氯仿中的水信号比较小，出现在 δ 1.6 左右，对糖环质子信号解析的干扰也小。因此，尽管完全乙酰化会大大增加样品分子的分子量，在^{1}H-NMR 谱的 δ 2.1 附近会出现许多乙酰基信号，总的来说，对分子内糖链结构的解析还是十分有利的。

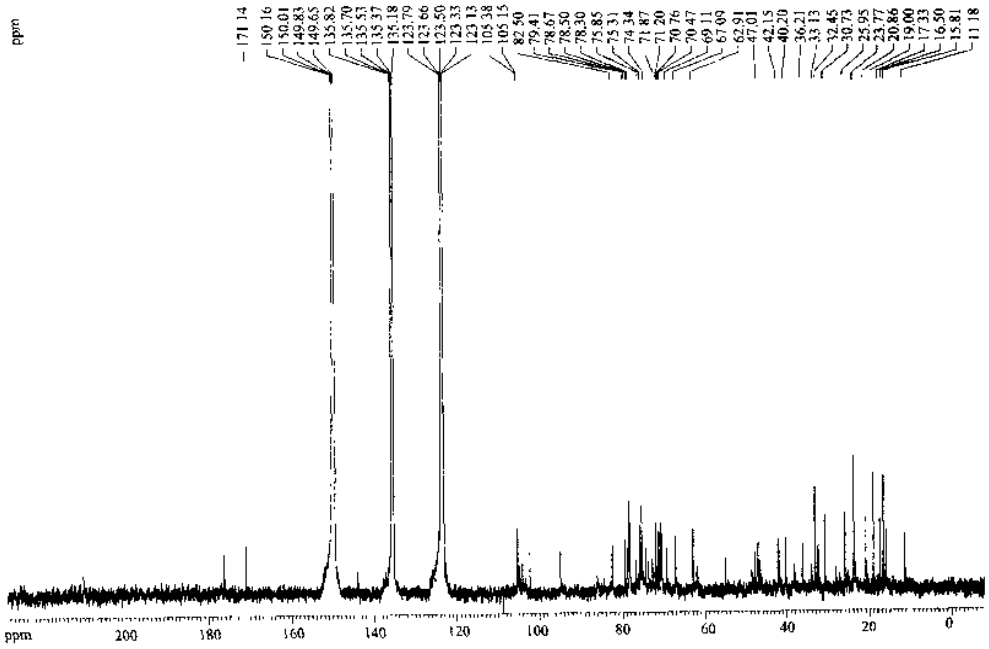


图 3-81 麦仙翁苷 B 的^{13}C-NMR 谱

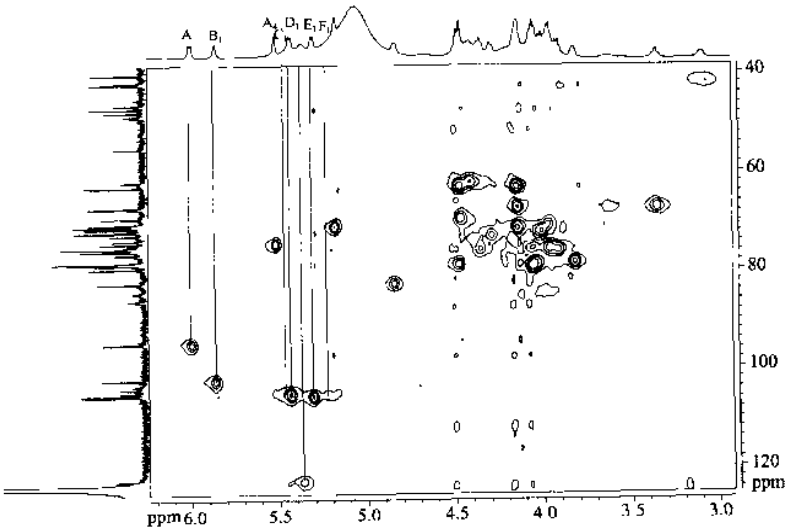


图 3-82 麦仙翁苷 B 的 HMQC 谱的低场放大图

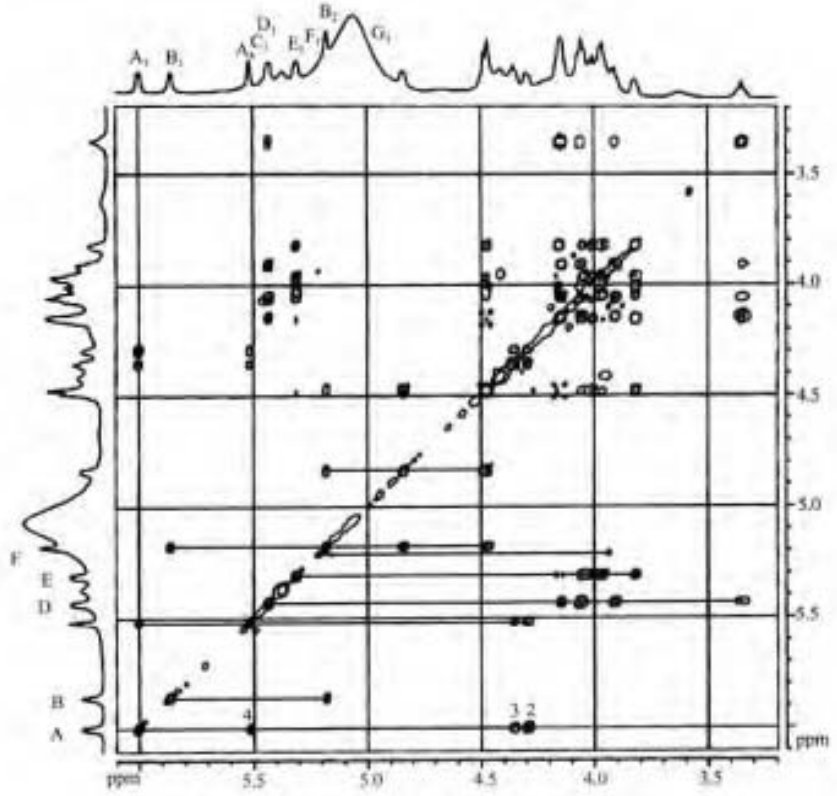


图 3-83　麦仙翁苷 B 的 TOCSY 谱的糖环质子区放大图

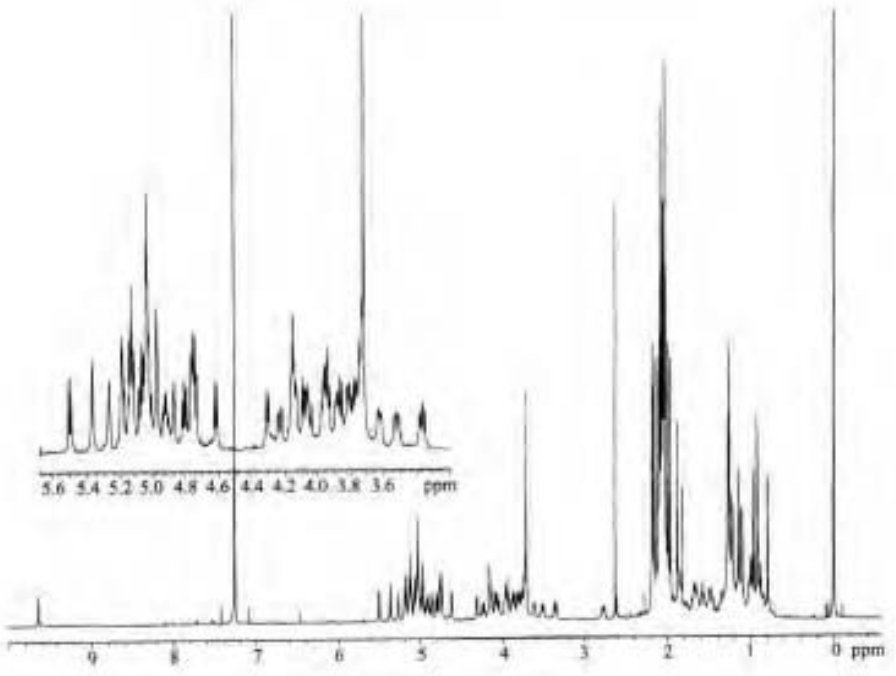


图 3-84　麦仙翁苷 B 过乙酰化产物的^{1}H 谱

图 3-84 是麦仙翁苷 B 过乙酰化产物的^{1}H 谱，谱图显示分辨率良好。其糖环质子信号明显分为两个区域，其高场侧由异头质子和乙酰化位点的糖环质子组成，低场侧留下糖环中的 5 位质子和糖基化位点的质子，信号重叠大为改善。尽管有乙酰化位点的糖环质子的干扰，异头质子仍可通过 HMQC 谱加以辨认，如图 3-85(HMQC 谱低场区放大图)所示。图 3-86 和图 3-87 分别为麦仙翁苷 B 过乙酰化产物的 DQF-COSY 和 TOCSY 谱的糖环质子区放大图，可按上一节介绍的方法进行糖残基自旋系统的分析。需要指出的是，低场侧由于乙酰化位点糖环质子信号的干扰和信号重叠，部分异头质子(如 H_{B1}、H_{C1}、H_{D1}、H_{E1})不适于做分析的切入点。如前所述，高场侧留下的糖环 5 位质子和糖基化位点的质子信号分辨良好，其中 5 位质子信号较

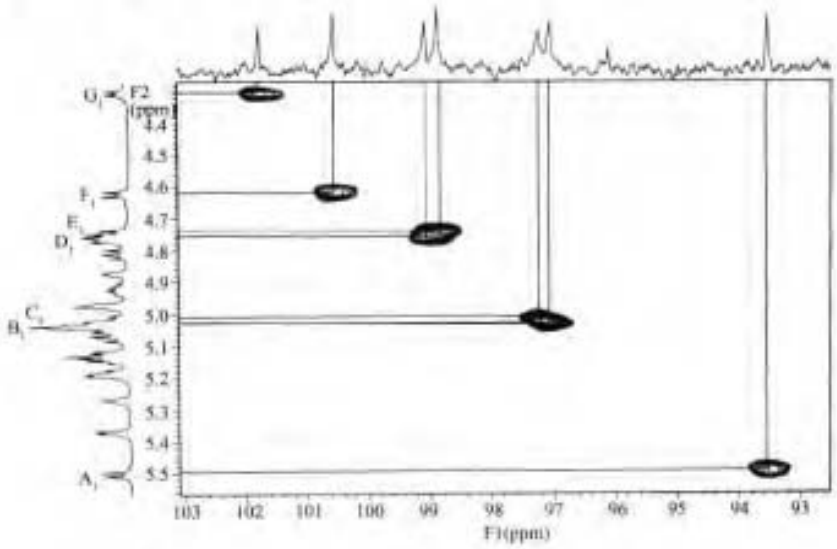


图 3-85 麦仙翁苷 B 过乙酰化产物的 HMQC 谱低场区放大图

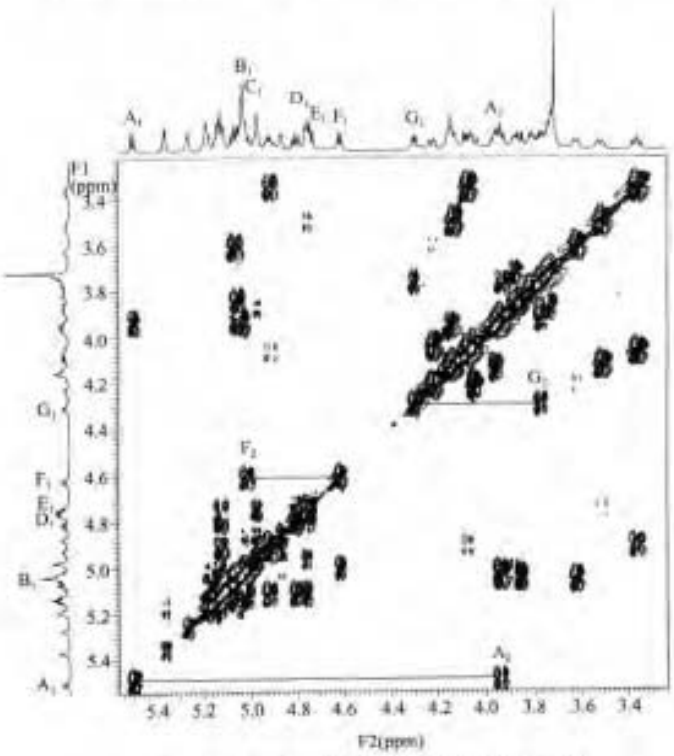


图 3-86 麦仙翁苷 B 过乙酰化产物的 DQF-COSY

易识别，可以作为自旋系统分析的切入点。图中自旋系统 C 和 E 中包含有典型的 5 位季生质子信号，是木糖的特征。自旋系统 F 中包显示 5 位质子与两个 6 位季生质子的相关，可归属为葡萄糖。自旋系统 A 的 4 位质子为平键，且出现在一在高场的一个甲基信号为起点的接力偶合链中，属岩藻糖。自旋系统 B 的 5 位质子在 TOCSY 全谱中显示与高场的另一个甲基信号相关，可以作为分析的切入点，从 H_{B5}起头的偶合链显示 H_{B5}和 H_{B4}重叠，2 位质子为平键，可归属为鼠李糖。自旋系统 D 的 4 位质子为平键，可归属为半乳糖。自旋系统 G 显示从 H_{G1}到 H_{G5}的偶合链，与麦仙翁苷 A 中的葡萄糖醛酸的自旋系统非常相似，可做出相应的归属。非常有趣的是，在 TOCSY 谱中已可发现糖基化位点的信息，如残基 A 的质子 H_{A2}，残基 B 的质子 H_{B5}和 H_{B4}和残基 G 的质子 H_{G2}和 H_{G3}出现在低场，提示这些位置为糖基化位点。残基 C、D、E 和 F，除 5 位质子出现在高场，其余的糖环质子都出现在低场，应该位于糖链的非还原端。

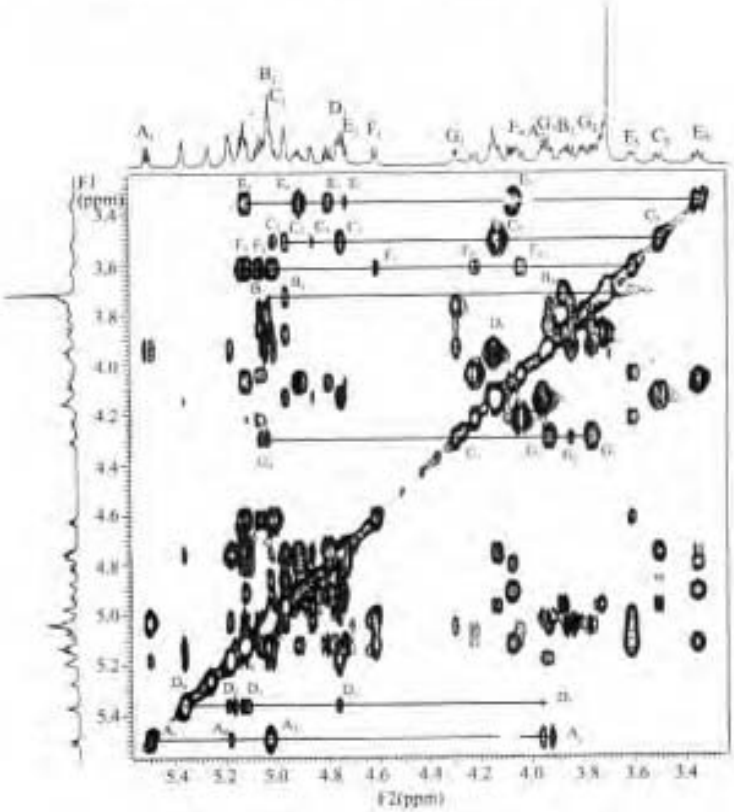


图 3-87　麦仙翁苷 B 过乙酰化产物的 TOCSY

图 3-88 是麦仙翁苷 B 过乙酰化物的 NOESY 谱的糖环区放大图，图中显示 H_{B1}/H_{A2}、H_{C1}/H_{G3}、H_{D1}/H_{G2}、H_{E1}/H_{B4}、H_{F1}/H_{B5}和 H_{G1}/H_3（苷元）等残基间 NOE 相关，表明麦仙翁苷 B 的糖链结构分别为 β-Xyl-1-(β-Gal1-2)-3-β-GlcA1-3-aglicone 和 β-Xyl1-4-(β-Glc1-3)-Rha1-2Fuc1-28-aglicone。与麦仙翁苷相比，28 位取代的糖链缺少了一个末端木糖残基，结构式如图 3-89。

完全乙酰化的方法是对系统解析法的一个有力补充，此前曾经在山甘草苷-M 的结构解析中也曾采用，证明是行之有效的方法。

2．环肽结构的系统解析方法

环肽与寡糖在结构上有类似之处，就是它们都是由亚结构单元（残基）组成的，因此环肽的结构解析方法与寡糖有类似之处，其结构系统解析方法也由以下两个部分组成：① 氨基酸残基自旋系统的识别与归属；② 氨基酸残基一级顺序的测定。

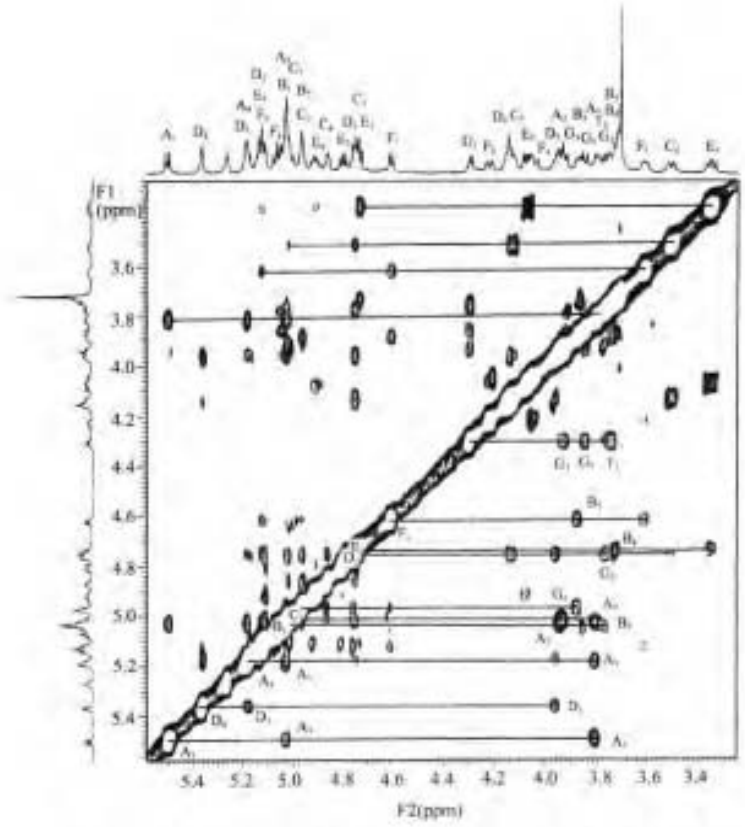


图 3-88 麦仙翁苷 B 过乙酰化物的 NOESY 谱的糖环区放大图

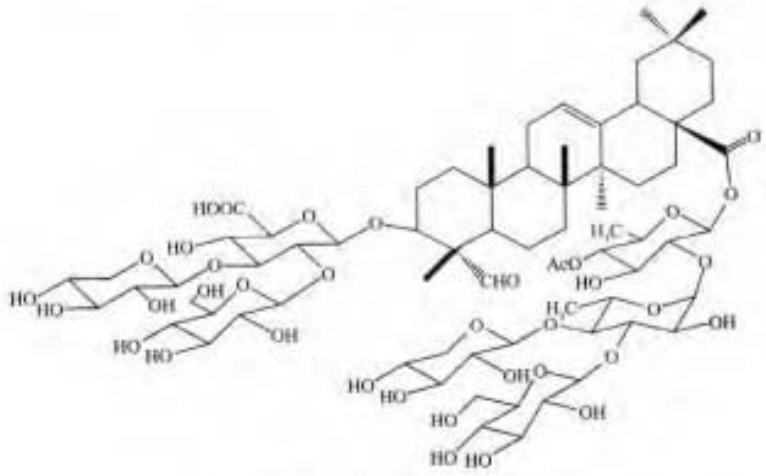


图 3-89 麦仙翁苷 B 的结构

它们之间也有差别，组成寡糖的亚结构单元是单糖，组成环肽的亚结构单元是氨基酸。此外，寡糖的残基与残基之间的连接是通过糖苷键，而环肽的残基与残基之间的连接是通过酰胺键，因此，环肽结构解析的这两个具体步骤有它自己特定的内容和特点。

相对来说，氨基酸残基自旋系统的识别与归属比较简单、直接，因为常见天然氨基酸的侧链各不相同，容易识别。其中只有天冬氨酸和天冬酰胺及谷氨酸和谷氨酰胺两对残基的侧链差别微小，需要注意加以区别。

另外，脯氨酸与其他残基不同，在分子内的脯氨酸缺少酰胺质子，需要留意。Wuthrich 等对正常氨基酸自旋系统 NMR 的图式(包括 DQF-COSY 和 TOCSY)已有详细的描述(图 3-90)，环肽中氨基酸自旋系统的识别和信号归属可参照进行。需要指出的是，天然环肽中常常会有非正常氨基酸出现，需要根据质谱和相应残基的 NMR 自旋偶合链的特征加以鉴定。

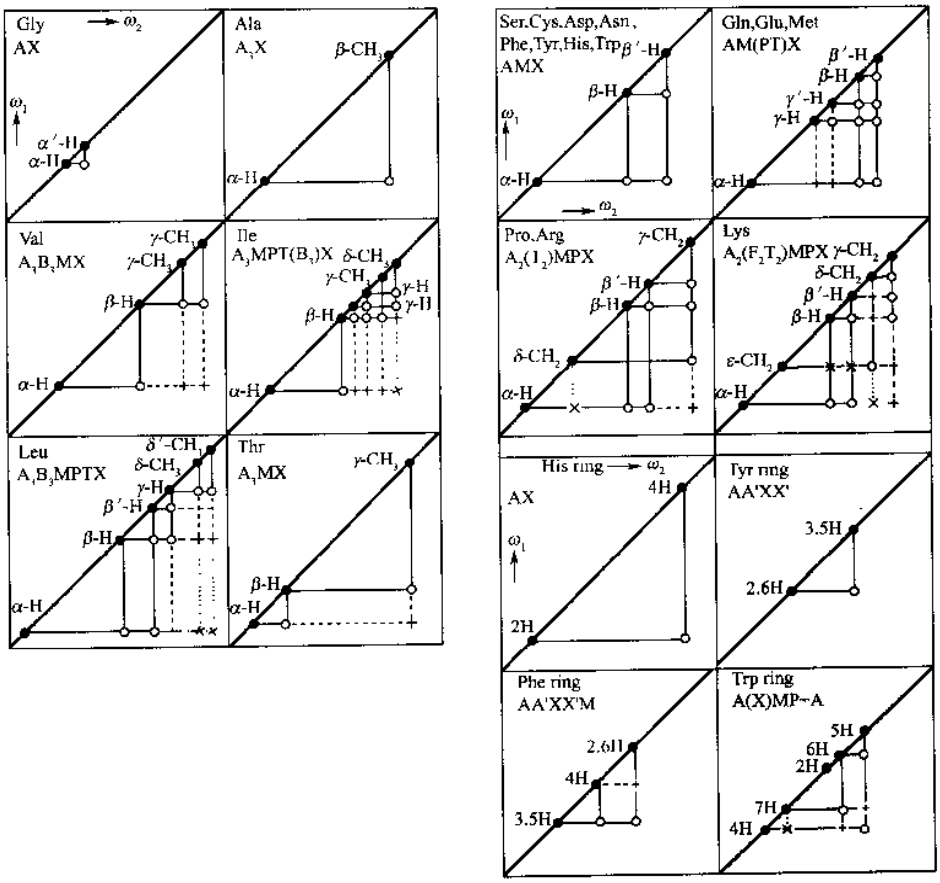


图 3-90　正常氨基酸自旋系统的 NMR 图式

环肽的氨基酸顺序信息主要来自两个方面：残基间的 NOE 相关和残基间的 CH 远程相关。对于多肽中特定二级结构的残基间 NOE 相关问题 Wuthrich 等也已有详细的分析，它包括第 N 个氨基酸的酰胺质子 NH、α-H、β-H 与第 $N+1$ 个氨基酸的 NH 之间的 NOE 相关，习惯上分别用 d_{NN}，$d_{\alpha N}$和 $d_{\beta N}$表示，如图 3-91 所示。

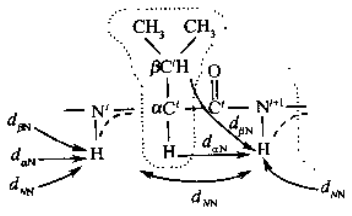


图 3-91　多肽中氨基酸残基内和残基间的 NOE 相关

由于氨基酸残基内的酰胺质子与 α-H、β-H 之间也常常有 NOE 相关，因此，具体归属过程中要先识别和归属残基内的 NOE 相关，然后再归属残基间的 NOE 相关信息。根据两个残基间的 d_{NN}、$d_{\alpha N}$和 $d_{\beta N}$相关信息就可以把相应的残基连接起来。残基间的 C—H 远程相关包括第 N 个残基的羰基 C 与第 $N+1$ 个残基的 NH 间的$^2J_{CONH}$和第 N 个残基的 C_α 与第$N+1$ 个残基的 NH 间的$^3J_{C_\alpha NH}$相关以及第 N 个残基的羰基 C 与第 $N+1$ 个残基的 α-H 之间的$^3J_{CO_\alpha H}$相关，根据这些相关信息就可以把相应的残基连接起来。但是，与 NOE 相关信息分析中的情况相类似，C—H 远程相关信息也有残基内与残基间之分，残基内的偶合常数$^3J_{CONH}$、$^2J_{C_\alpha NH}$和$^2J_{CO_\alpha H}$在数值上与上述残基间的 C—H 远程偶合常数并无特异性差别，因此，具体分析中需要注意区分残基间的与残基内的 C—H 远

程相关。具体的识别方法是利用残基内的 βH 信号，因为残基内的 βH 信号只与残基内的 C_α（$^2J_{C_\alpha H}$）和 CO（$^3J_{CO_\beta H}$）产生远程相关。残基间 C—H 远程相关分析中另一个难点是氨基酸的羰基 C 信号化学位移分布比较窄，多个羰基 C 信号常常紧靠在一起，有时甚至完全重叠，无法区分。这种情况下要更多地利用包含 C_α 的残基间远程相关信息进行解析。

采用从头开始的系统解析法测定环肽结构的最初尝试是一种新的环肽抗生素——庆井霉素（qingjinmycin）的结构测定[44]。庆井霉素也是由郑幼霞等在 20 世纪 80 年代通过原生质体融合的方法，由庆丰链霉菌（*Streptomycin qingfengmyceticus*）和井冈链霉菌（*Streptomycin hydroscopicus* var. *jingganggensis*）两个亲株的原生质体融合重组而成的重组菌株 FM-32 产生的抗菌素。其结构与两个亲株产生的抗生素——庆丰霉素（qingfengmycin）和井冈霉素（jinggangmycin）完全不同，是包含有非常见氨基酸的环肽化合物。由于分离困难，纯化得到的量很少，其结构测定有一定难度，借助于近代 NMR 波谱方法测定了结构。后来周俊等借助于一种检测方法从中药云南繁缕（*Stellaria yunnanensis* Franch）、山银柴胡（*Arenaria juncea*）、瞿麦（*Dianthus superbus* L.）等中发现了一系列环肽化合物。上述系统解析方法在这些环肽化合物的结构测定中得到了很好的应用。

以下用云南繁缕中的环肽成分——繁缕环肽 A（stellarin A）为例，介绍环肽结构的系统解析方法。繁缕环肽 A 为无定形粉末，$[\alpha]_D$ - 11.4°（c 0.696）。对茚三酮反应呈阴性，但是，经 6mol/L HCl 处理后对茚三酮反应呈阳性。IR 显示强的 N—H 和 C—O 吸收峰（ν_{max} 3300 cm^{-1}、1650 cm^{-1}）。分子式由高分辨的快原子轰击质谱（HRFABMS m/z 676.315）测定为 $C_{34}H_{41}O_8N_7$。这些信息提示它为环肽化合物。

首先进行 CH 信号的初步分析。图 3-92 是其 ^{1}H-NMR 谱图，其低场侧显示 5 个酰胺质子信号和 9 个芳香质子信号，芳香质子中 5 个 H 为取代苯环特有的 d，2H、t，2H 和 t，1H 图式，提示可能有苯丙氨酸残基存在。其余的 4 个 H 为 a，b 图式，是酪氨酸特有的图式。高场侧为氨基酸残基的 αH、βH 和其他侧链 H 信号，其中大多数信号分辨良好，但是部分位点有多个信号重叠。图 3-93 是繁缕环肽 A 的 ^{13}C-NMR 谱图，低场侧有 12 个芳香 C 信号（有 4 对兼并芳香 C 信号）和 7 个酰胺 C 信号（δ 168.21，168.45，170.23，170.33，170.43×2，172.25），其中有两个酰胺 C 信号完全重叠，表明可能为环七肽。在高场侧有 16 个 C 信号，其中 δ 40 以上的为 C_α 信号和接 N 原子的 C 信号，δ 40 以下的为氨基酸侧链 C 信号。进一步的分析可结合 HMQC 谱图（图 3-94）。HMQC 谱图低场部分的相关峰完全符合苯丙氨酸和酪氨酸中两个苯环的结构特征。HMQC 谱图高场侧 ^{13}C- NMR 化学位移 δ 41～60 区域显示 4 个 N-CH 信号，5 个 N—CH_2 信号。其中 3 个 N—CH_2 信号的化学位移分别为 δ 41.3，41.9，42.6，可分别归属为 3 个甘氨酸残基。另外 2 个 N—CH_2 信号可能属于脯氨酸或其他长链氨基酸。其余为氨基酸侧链信号。

氨基酸残基自旋系统的识别与归属主要借助 TOCSY 谱，并配合 DQF-COSY 和 NOESY 谱图进行解析。

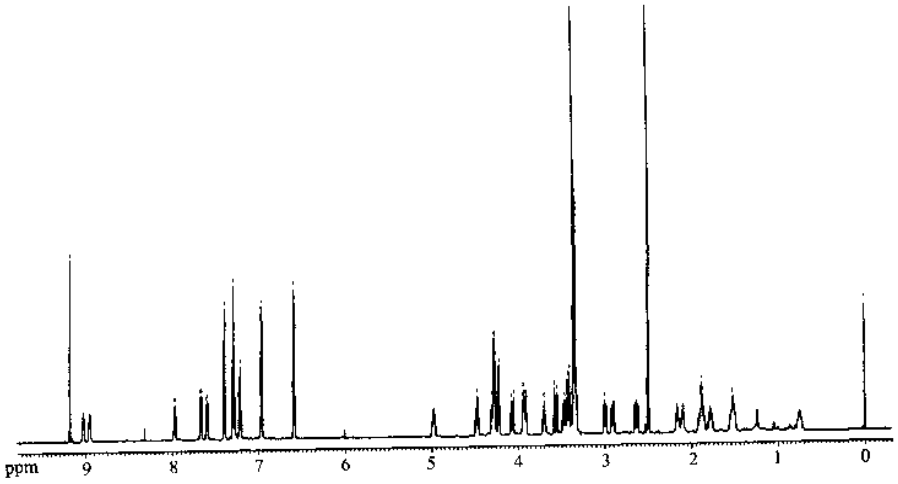


图 3-92 繁缕环肽 A 的 ^{1}H-NMR 谱

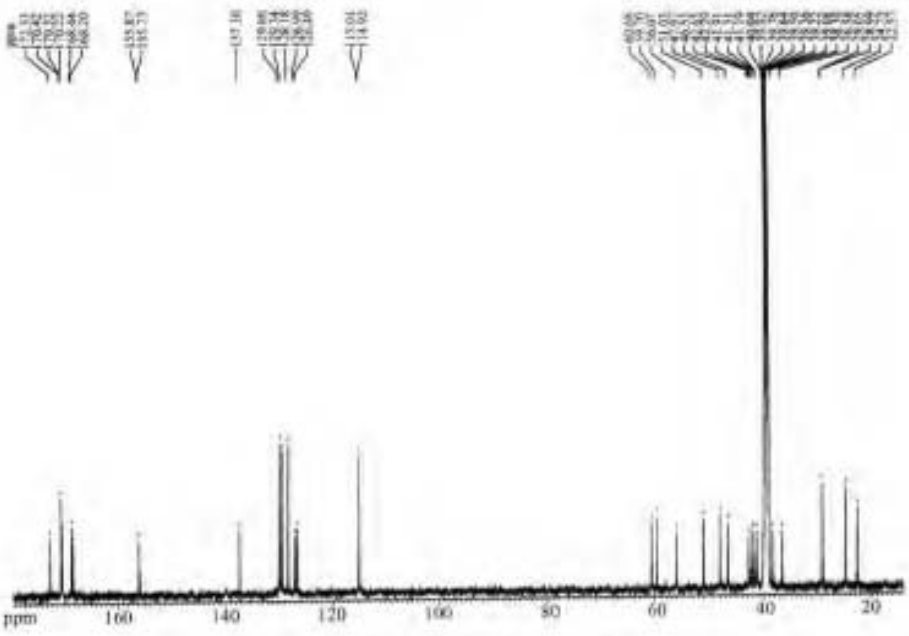


图 3-93　繁缕环肽 A 的^{13}C-NMR 谱

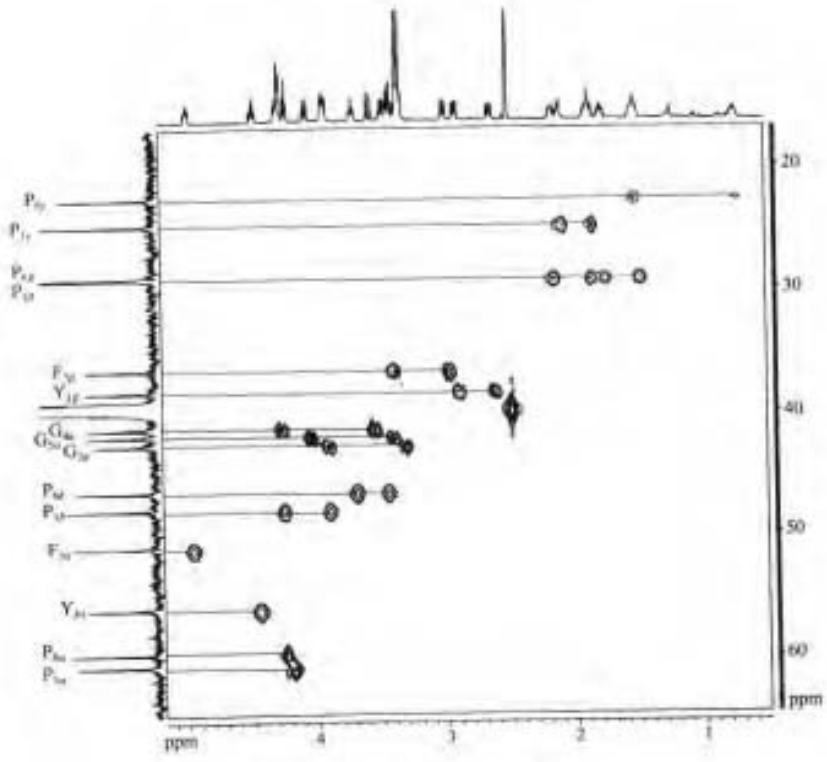


图 3-94　繁缕环肽 A 的 HMQC 谱

多肽的二维^{1}H-NMR 谱图解析一般分成三个区域：F2(δ 6.5～10)，F1(δ 6.5～10)区域的为低场区，主要显示酰胺质子和芳香质子间的相关信号；F2(δ 0～6.5)，F1(δ 0 ～6.5)为高场区，显示 α-H 和侧链质子间的相关，主要用于氨基酸自旋系统的识别；F2(δ 6.5～10)，F1(δ 0 ～6.5)区域为指纹区，它显示主链质子间即

NH 与 α-H 之间的相关，对于多肽和环肽化合物的结构解析和信号归属尤为重要，应予特别重视。氨基酸残基自旋系统解析的最好切入点是酰胺质子，在指纹区每一个氨基酸残基的 NH 除显示出与 α-H 的直接偶合外，还显示出与侧链质子的偶合相关，如果自旋锁定的混合时间选择适当，往往能够显示该残基的整个自旋偶合链，自旋系统的识别十分直观。

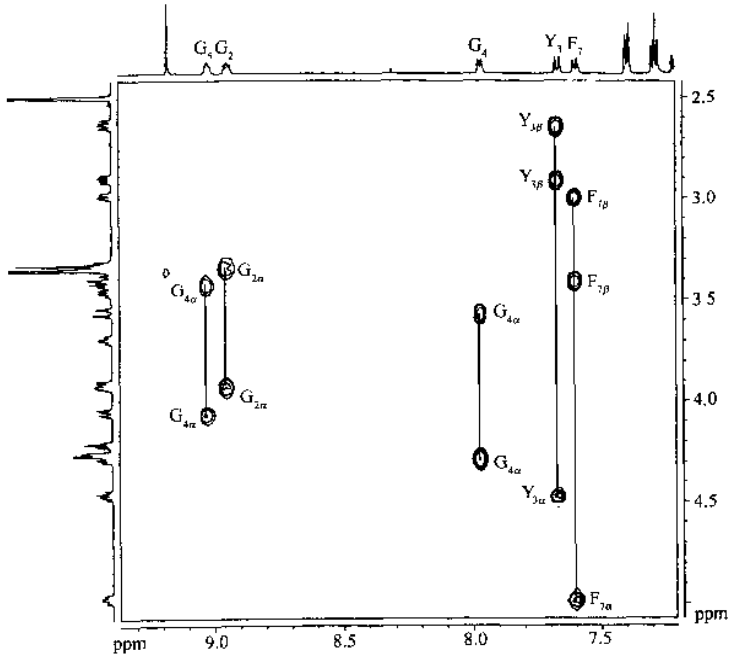


图 3-95 TOCSY 谱图的指纹区

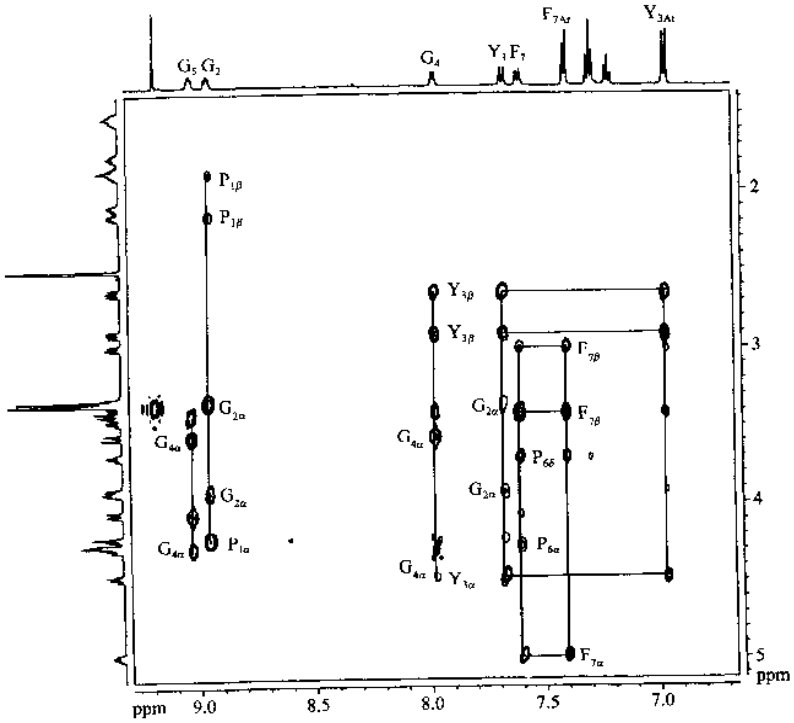


图 3-96 NOESY 谱的指纹区

图 3-95 是 TOCSY 谱图的指纹区，从低场侧开始的三个自旋系统（其 NH 的化学位移分别为 δ 9.022，8.942，7.958）属于 AM2（在 α-H 的区域每个都显示与 2 个质子的偶合相关，由 HMQC 谱知道，这 2 个 H 是孪生质子，根据其 C，H 的化学位移可以判定为 α-H），因此这三个残基都属于甘氨酸（分别标记为 G_5、G_2 和 G_4）。余下的 2 个自旋系统（其 NH 的化学位移分别为 δ 7.656，7.568）分别显示与一个 α-H 和两个 β-H 的偶合相关，其自旋系统为 AMX_2，属于该自旋系统的氨基酸残基有天冬氨酸、半胱氨酸或芳香氨基酸。根据其 β-H 的化学位移值，可以判断属于芳香氨基酸的自旋系统。进一步与 NOESY 谱的指纹区（图 3-96）比较可以发现：NH 化学位移为 δ 7.656 的自旋系统中的 α-H 和两个 β-H 与酪氨酸的芳香质子之间有 NOE 相关，因此该自旋系统可归属为酪氨酸（Y_3）。此外，NH 化学位移为 δ 7.568 的自旋系统中的 α-H 和两个 β-H 与苯丙氨酸的芳香质子之间有 NOE 相关，相应地该自旋系统可归属为苯丙氨酸（F_7）。

氨基酸残基自旋系统解析的另一个好的切入点是氨基酸（如丙氨酸、亮氨酸、异亮氨酸）侧链中特征的甲基信号，可以在 TOCSY 谱的高场区中寻找。在环肽 A 的 TOCSY 高场谱图（图 3-97）中没有发现有甲基信号，表明分子内没有上述类型的氨基酸存在。但是，在这个区域除了通过指纹区归属了的信号外，还可以发现有两条长的自旋偶合链，如图 3-97 中线框所示。每一条偶合链都包括 7 个 H 信号，配合 DQF-COSY 和 HMQC 谱进行解析可以发现其自旋偶合系统结构为：—N—CH_2—CH_2—CH_2—C_αH—CO—，系统中没有 NH 存在，该自旋系统在指纹区也不出现，因此，这两个自旋系统可分别归属为脯氨酸（P_1 和 P_6）。至此，分子内的氨基酸残基自旋系统归属完毕，残基内所有接 H 碳原子的化学位移也可做出明确的归属。

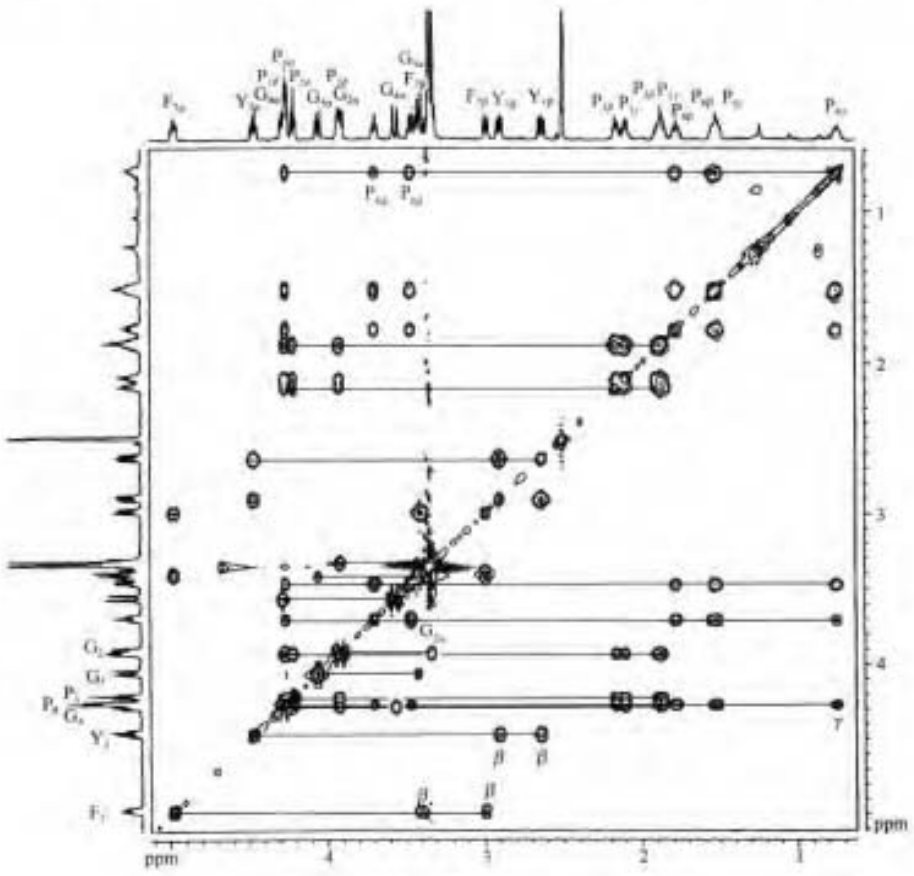


图 3-97　TOCSY 高场谱图

结构解析的下一个步骤是决定氨基酸残基的连接顺序。如前所述，这主要通过解析残基间的 NOE 相关和 C—H 远程相关来完成，而残基间 NOE 的信息主要从 NOESY 谱的指纹区得到。进一步分析繁缕环肽

A 的 NOESY 指纹区放大图 5-27，自旋系统 G_5(甘氨酸)的 NH 除显示与本残基的两个 α-H 间的 NOE 相关外，还显示与自旋系统 G_4(甘氨酸)的两个 α-H 之间的 NOE 相关，由此可见，与甘氨酸 G_5 的 N 端相接的是甘氨酸 G_4，而甘氨酸 G_4 的 NH 除显示与本残基的两个 α-H 之间的 NOE 相关外，还显示与自旋系统 Y_3(酪氨酸)的两个 βH 之间的 NOE 相关，与该残基的 α-H 间也有弱的 NOE 相关。因此，连接甘氨酸 G_4 的 N 端的是残基 Y_3(酪氨酸)。进一步，酪氨酸的 NH 除显示与本残基的 α-H 和两个 β-H 之间的 NOE 相关外，还显示与自旋系统 G_2(甘氨酸)的两个 α-H 之间的 NOE 相关，与酪氨酸 N 端相接的是另一个甘氨酸 G_2。甘氨酸 G_2 的 NH 除显示与本残基的两个 α-H 之间的 NOE 相关外，显示与自旋系统 P1(脯氨酸)的 α-H 和两个 β-H 之间的 NOE，所以下一个残基是脯氨酸 P_1。由于脯氨酸没有 NH，氨基酸顺序的解析到此中断。在指纹区，苯丙氨酸(F_7)的 NH 显示与本残基的 α-H 和 β-H 之间的 NOE 相关以及与自旋系统 P_6(脯氨酸)的 α-H 和 β-H 之间的 NOE 相关，提示下一个与之相接的是另一个脯氨酸(P_6)。与脯氨酸 N 端连接的残基可改由从该脯氨酸的 δ-H 出发去寻找。在 NOESY 谱的高场区域(图 3-98)，脯氨酸 P_6 的两个 δ-H 都显示与自旋系统 G_5(甘氨酸)的 α-H 之间的 NOE 相关，由此可见与脯氨酸(P_6)N 端连接的是甘氨酸 G_5。最后脯氨酸 P_1 的两个 δ-H 又显示与自旋系统 F_7 的 α-H 之间的 NOE 相关，表明脯氨酸 P_1 的 N 端与甘苯丙氨酸 F_7 连接。这样形成一个闭合的环路，环肽 A 中的氨基酸残基的连接顺序得以确定为 P_1-G_2-Y_3-G_4-G_5-P_6-F_7。

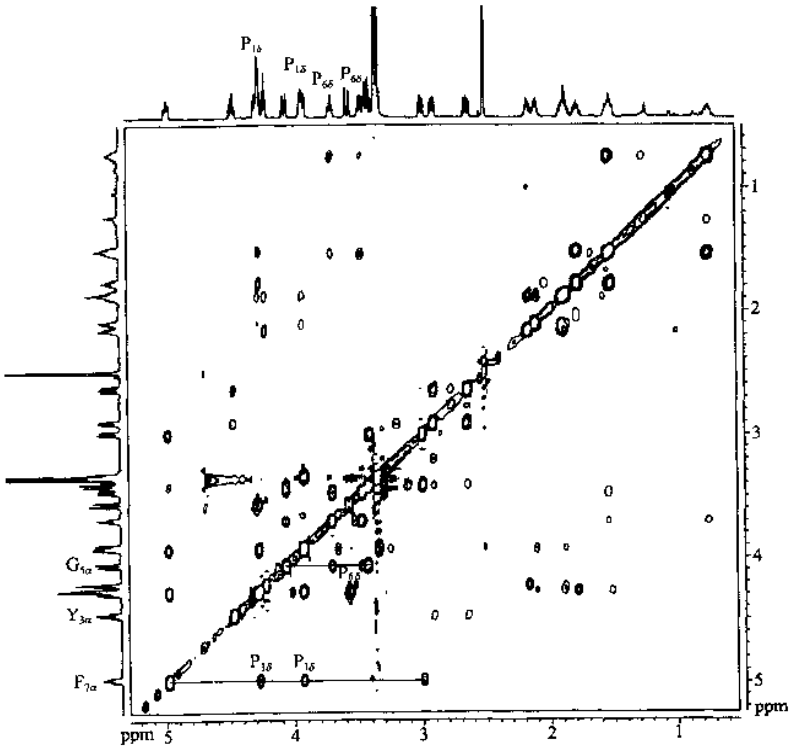


图 3-98 繁缕环肽 A 的 NOESY 高场区放大图

氨基酸顺序的信息还可以通过 HMBC 谱提供的残基间 C—H 远程相关信息得到。如前所述，在进行残基间远程相关信息的归属之前，需要对各个残基的羰基信号进行归属。图 3-99 为繁缕环肽 A HMBC 谱中羰基与氨基酸侧链质子远程相关区域的放大图。图 3-99 中显示 $P_{1_{\gamma\text{-H}}}/P_{1_{CO}}$、$G_{2_{\alpha\text{-H}}}/G_{2_{CO}}$、$Y_{3_{\beta\text{-H}}}/Y_{3_{CO}}$、$G_{4_{\alpha\text{-H}}}/G_{4_{CO}}$、$P_{6_{\beta\text{-H}}}/P_{6_{CO}}$等一系列残基间 C—H 远程相关信息，据此，可以对相应的氨基酸的羰基信号进行归属。

图 3-100 是繁缕环肽 A 的 HMBC 谱中酰胺质子与羰基间的 C—H 远程相关放大图，图 3-100 中显示 $Y_{3_{NH}}/G_{2_{CO}}$、$G_{4_{NH}}/Y_{3_{CO}}$、$F_{7_{NH}}/P_{6_{CO}}$、$G_{2_{NH}}/P_{1_{CO}}$、$G_{5_{NH}}/G_{4_{CO}}$相关。这些 C—H 远程相关信息进一步证实了繁缕环肽 A 的结构(图 3-101)。需要注意的是，采用 HMBC 实验获取残基间 C—H 远程相关信息也有一定的局限性。首先，酰胺碳的化学位移集中在一个狭小的范围，往往不易分辨，有时甚至相互重叠。因此HMBC

实验的F1维的数据点数应该适当增加，以提高其分辨率。其次，取决于环肽在溶液中的构象，跨越各个酰胺键的C—H偶合常数各不相同，因此不可能通过一个HMBC实验检测到所有的C—H远程偶合相关，有时需要选择不同的偶合常数$^3J_{CH}$，进行HMBC实验，才能得到尽可能多的C—H远程相关信息。

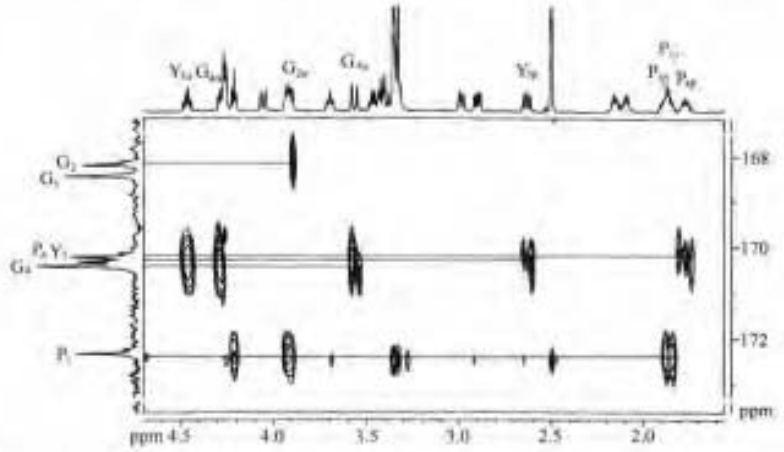


图3-99　繁缕环肽A HMBC谱中羰基与氨基酸侧链质子远程相关区域的放大图

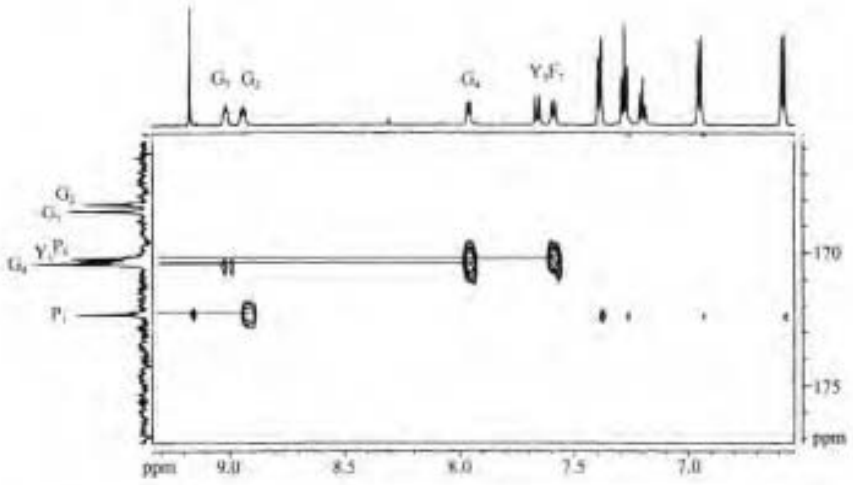


图3-100　繁缕环肽A的HMBC谱中酰胺质子与羰基间的远程CH相关放大图

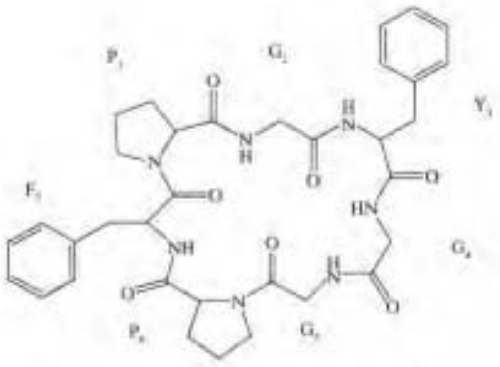


图3-101　繁缕环肽A的结构

上述环肽结构的系统解析法解决了云南繁缕中的多个环肽的结构问题[45~49]，后来在大叶繁缕(*Stellaria delavayi*)[50~52]、山银柴胡(*Arenaria juncea*)[53]、瞿麦(*Dianthus superbus* L.)[54]、番荔枝(*Annona squamosa*)[55]等一系列中草药的环肽成分的结构测定中得到广泛的应用。

采用系统测定法鉴定天然产物的结构的一个重要优点是能够实现C,H信号全归属，因此得到的最终结构比较可信。此外，结构解析过程中得到的$^3J_{HH}$和$^3J_{CH}$及质子间NOE相关信息都可以作为约束，用于分子溶液构象研究。有关分子溶液构象的知识是讨论生物活性分子的作用机制和构效关系的重要基础，在生物医药高技术的发展中是至关重要的。

六、结　　语

近代NMR波谱技术对于处理结构问题的巨大潜力已促使这些技术在天然产物化学中得到广泛应用，用来解决未知化合物的结构问题、波谱数据的归属问题和复杂的立体化学问题。由于NMR测试方法种类繁多，对于每一个具体的结构问题常常有多种测试方法供选择，因此必须根据样品的多少、结构的复杂性、样品的弛豫性质、实验的难易程度、所需的分辨率和所用仪器的性能等因素来考虑具体采用何种实验方法，从多种多样的实验方法中选择最简便、最富有信息、最可靠的测试方法。研究工作中常常遇到以下几种情况：

(1) 一般未知结构的测定

对于结构复杂性一般的分子，如果样品量也是相当多，其结构测定的最常用方法就是COSY和^{1}H,^{13}C-COSY谱的组合，这两种最基本二维谱的结合使用为解决一般结构问题提供了最为有利的途径，因为COSY谱中H-H偶合相关信息就直接为建立相应的C—C连接提供依据，而有了H—C相关信息在H谱中相互重叠的信号有可能利用^{13}C谱的高分辨率特性而得到分离。其中不等价的CH_2质子信号利用^{1}H,^{13}C-COSY谱就很容易归属。因此利用COSY提供的H-H相关信息就很容易拼接出分子的碳架。可能遇到的困难是分子中的季碳原子和杂原子(如氧)有可能隔断这种偶合相关，这种情况下Relayed COSY和COLOC谱能提供有用的信息。Relayed COSY能提供$^4J_{H,H}$(如W形或烯丙位偶合)的远程偶合相关信息。同样地COLOC能提供$^2J_{C,H}$、$^3J_{C,H}$的远程偶合相关信息，因此就能发现跨过杂原子和季碳原子的这种远程偶合关系，从而建立分子片段通过这些杂原子或季碳原子的连接关系，把杂原子或季碳原子拼接进分子中去。

(2) 对于中等复杂的小分子化合物

对于结构比较复杂的分子，由于分子内质子数量多，并且相互间存在着较为复杂的偶合关系，它们的^{1}H谱十分拥挤，采用一般的COSY谱仍然不能完全克服信号重叠时，可以改为DQF-COSY和^{1}H,^{13}C-COSY组合使用较为有利。由于DQF-COSY能压制对角峰、溶剂峰，因此靠近对角线附近的相关信号得以显示，并且交叉峰显示精细结构和相位特征。对于克服重叠和分析复杂的偶合关系极为有利。但是如果在这种情况下仍然不能解析所有的连接关系，则可以测Relayed COSY谱去获得H_1-H_2-H_3接力相关信号，因为H_2即使与其他信号相互重叠难以确定时，仍然可以根据H_1与H_3的相关信号确定H_1-H_2-H_3的连接关系存在。同样地Relayed ^{1}H,^{13}C-COSY谱也可以用来解决由于H谱拥挤而造成的^{13}C谱的归属问题。

(3) 具有十分复杂结构的未知物的解析

对于结构十分复杂的分子，由于^{1}H共振信号的大量增加，信号重叠的现象会变得十分严重，H偶合链的解析会变得非常困难。此外，由于相偶合的质子信号化学位移非常接近，它们之间的交叉峰十分靠近对角峰线，因此辨别十分困难。在这些情况下，上述结构解析的一般原理仍然适用，但可以选用多重接力和多量子相干原理的相关谱。对于某些极其复杂的分子，可能在一条H偶合链中存在着多个信号与其他信号相重叠，这种情况下可以改用TOCSY谱进行解析，通过选择适当的测试参数，它常能提供远大于7~8个键的所有质子间的偶合相关信息，因此能大大简化复杂分子的解析过程。此外，随着分子结构复杂性增加，相对分子质量上升到800~1500区间，由于分子滚动时间常数达到临界值，这时样品的NOESY谱相关信号往往很少。解决的办法是用旋转框架的ROESY谱去替代NOESY谱，往往能够得到更多的信息。在这种情况下，

需要注意的是，由于采用了自旋锁定，可能会在谱图中出现假 NOE 相关信号，可通过信号的相位不同加以鉴别，或者可以通过改变谱图测定的频率范围，做新的实验，进行编辑予以区分。对于某些来源极其困难的微量天然产物，按照上述的解析方法要测定一般的^{1}H，^{13}C-COSY 谱、COLOC 谱就非常困难。在这种情况下可以采用异核多量子相干(HMQC)法和异核多重键相关(HMBC)谱来替代它们。这两种谱由于采用^{1}H来检测$^{1}J_{C,H}$、$^{2}J_{C,H}$和$^{3}J_{C,H}$相关信息，灵敏度有大幅度提高，即使对于毫克，甚至亚毫克级的样品仍然可以对分子中的 H、C 相关关系作详尽的探讨。

需要特别强调的是，尽管 2D-NMR 波谱技术能够提供有关分子极其详尽的结构信息，是天然产物的结构非常有效而强大的解析手段。但是不能因此而忽视其他波谱技术的作用，在天然产物结构测定的实践中，只有与其他波谱技术和分析手段密切配合，才能以最短的时间和最小的代价得到可靠的结果。其他波谱技术同样包含有分子结构的重要的、甚至是无可替代的信息。例如，质谱能够提供相对分子质量、元素组成和分子式等重要信息。红外光谱能够提供分子中官能团的信息，而紫外和可见光谱能够揭示分子中发色团的存在。本书的前一章对这些波谱方法做了详尽的介绍，通过这些波谱数据往往能够为确证分子中某些特定的官能团和发色团的存在通过直接而明确的证据，而这些特定的官能团或发色团可能又是这些天然产物的特征构造，如果采用 NMR 方法可能比较费事，或者要花费较多的机时才能解决问题。因此，在天然产物的结构研究中要注意综合运用波谱手段才能取得最好的效果。

同样需要强调的是要重视传统的化学方法。随着波谱和其他物理方法的发展，传统的化学方法有受到忽视的倾向。近年来，这个领域的初学者往往过分依赖物理方法和波谱技术，不愿意采用传统的化学方法，包括点滴反应、化学降解和化学转换。一方面，可能是由于分离得到的样品量少，通过微量反应进行化学降解和化学转换十分不易；另一方面，点滴反应、化学降解和化学转换需要多方面的知识，而初学者往往缺乏这方面的知识。其实，化学方法是天然产物结构研究中不可或缺的组成部分，波谱技术与化学方法的有机结合能使天然产物的结构研究变得更加严谨，笔者早年在橙色海绵(*Agelas nakamurai* H.)的生物活性物质 Agelasine 和 Agelasidine 等研究中的实践就是证明，有兴趣的读者可参考相关文献[56~60]。同样，本章介绍的糖苷类和环肽类天然产物都可以通过特定的点滴反应加以鉴别，其残基组成和糖苷化合物中的苷元也应该通过降解和分析加以验证。经过降解产物验证和通过化学转换与已知结构关联能够大大提高结构的可靠性。

第二节　质　　谱[61~63]

质谱(mass spectroscopy)是记录分析样品在质谱仪中经高温(300 ℃)气化，在离子源受一定能量冲击产生阳离子，而后在稳定磁场中按质量和电荷之比(m/z)顺序进行分离并通过检测器表达的图谱。图中的每一个峰代表一个质量数。根据分子离子峰(通常在最高处)与碎片峰的质荷比推导化合物的结构。高分辨质谱则直接给出相对分子质量的精确数字和分子式。这是解析化合物结构的重要基础，但质谱中不能用平均相对原子质量(如氯为 35.45)计算，而要用^{35}Cl为 34.968 853 59。一般以^{12}C为 12.000 000 00 为标准。有机化合物中各元素与其同位素的精确相对原子质量如下：

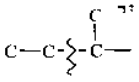
^{1}H = 1.007 825 22
^{2}H = 2.014 102 22
^{12}C = 12.000 000 00
^{13}C = 13.003 355 08
^{14}N = 14.003 074 40
^{15}N = 15.000 109 3
^{16}O = 15.994 915 02
^{17}O = 16.999 133 3
^{18}O = 17.999 159 96
^{19}F = 18.998 404 6
^{28}Si = 27.976 928 6
^{29}Si = 28.976 496 9
^{30}Si = 29.973 772 2
^{31}P = 30.973 763 3
^{32}S = 31.972 072 8
^{33}S = 32.971 459 1
^{34}S = 33.967 870 1
^{35}Cl = 34.968 853 59
^{37}Cl = 36.965 903 04
^{79}Br = 78.918 332 0
^{81}Br = 80.916 292
^{127}I = 126.904 475 5

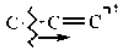
质谱常用的离子源是电子轰击源，即利用低能量(70eV)的慢电子轰击样品的气体分子使成阳离子，称为电子轰击质谱(electron impact mass spectra，EI-MS)。

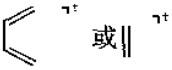
通常应用的装置有单聚焦型(single focussing)和双聚焦型(double focussing)两种分辨质谱仪，前者对两种 m/z 分辨率在 600 左右，而双聚焦高分辨率质谱仪的分辨率达几千至几万。后者已日益普及，仅消耗几微克样品就能直接提供各种分子及许多碎片离子的精确的相对分子质量及元素组成或分子式，然后运用各类化合物的碎片规律进行分析，为确定化合物化学结构提供极其重要的数据。目前质谱分析已成为确定结构所不可缺少的重要工具，使许多天然产物在微量情况下就能够定出结构式。

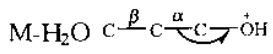
一、EI-MS 的碎片类型

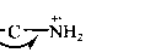
下列碎片为电子轰击时出现，在低质量区或高质量区所得(M-碎片)的峰。⟩示一个电子转移；⟩示一对电子转移；~~~示由箭头(→)所指碎片带电荷的裂分。

烷烃：  　29,43,57,…

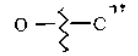
烯烃：  　β(烯丙基裂分)：41($^{+}CH_2$—CH = CH_2),55,69…

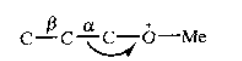
 　反-Diels-Alder 裂分： 

脂肪醇：M-H_2O  　α：31　(H_2C = $\overset{+}{O}$H),45,59

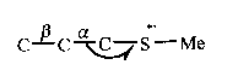
卤代烷：M − HX  　α：“烷”峰 29,43,57…

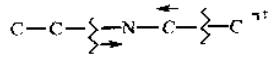
脂族胺：　α：30　(H_2C = $\overset{+}{N}H_2$),44,58…

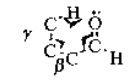
脂族醚：  　“烷”峰 29,43,57…

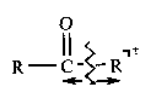
 　α：45　(H_2C = $\overset{+}{O}$—Me),59,74…

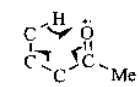
脂族硫醚：由于^{34}S的天然丰度是 4%，M+2 峰加强

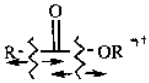
 　α：61(CH_2 = $\overset{+}{S}$—Me),75,89…

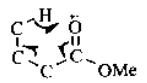
脂族仲、叔胺： 

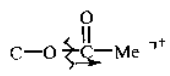
脂族醛：  　从 γ-C(Mclafferry 重排)带有一个 H+转移的 β 裂分：44,58,72…

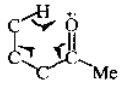
脂族酮：  　“β + γ(H+)”系列 58,72,86…



脂族酯： 

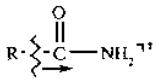
 　“β + γ(H+)”系列 74,88,102…

乙酯： 

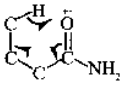


带有 γ-H+转移的 β 裂分:M-60

脂肪族酰胺：

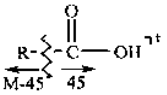


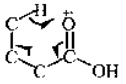
44



"β+γ(H+)"系列 59,73,87…

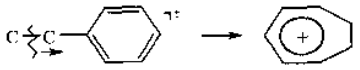
脂族酸：



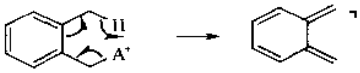


"β+γ(H+)"系列 60,74,86…

芳香族化合物：



卓阳离子 91,105,119…



H-A

八角枫碱　[八角枫 *Alangium chinense*(Lour.)Harms 中的主要生物碱,已经鉴定为消旋毒藜碱(*dl*-Anabasine)]的质谱图,分子离子峰 162,根据质谱可解析其结构如图 3-102 所示。

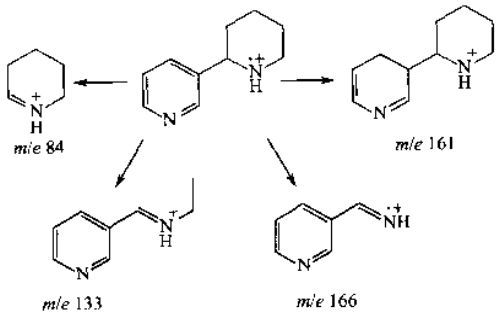


图 3-102　八角枫碱的质谱裂解片段

EI-MS 也存在一些缺点,如不能用于受热易分解的化合物[有时可将某些化合物制成三甲基硅(TMS)醚或其他易挥发的衍生物以克服这一困难]。有许多化合物在一般情况下,即在电子轰击质谱中不出现分子离子峰[分子离子峰:由一个化合物分子失去一个电子而产生的阳离子称为分子离子。按分子离子峰

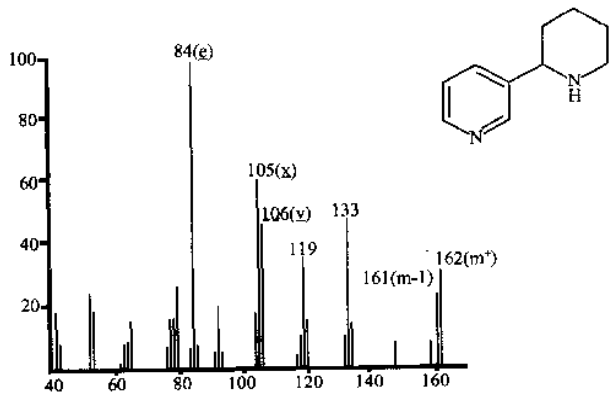


图 3-103　八角枫碱的质谱图

(molecular ion peak)大小,各类化合物可排列如下:芳香族化合物>共轭链烯>脂肪族化合物>直链烷烃类>硫醇>酮>胺>酯>醚>酸>分枝烷烃类>醇。因此,分子离子峰成为标准峰时,这个化合物一般都是芳香族化合物]或分子离子峰极不明显。如果混有杂质就更难区别。据估计有 20% 有机化合物样品,如许多甾体化合物和许多配糖体测不出分子离子峰,可用改进离子源的方法克服这个缺点。例如,采用场解吸质谱、快原子轰击法、化学电离质谱等。八角枫碱的质谱图如图 3-103 所示。

二、场解吸质谱

场解吸质谱(FD-MS)是将样品不经气化与载体表面形成一个薄层,再与电离剂接触,为了测定极性大的大分子化合物和提高灵敏度,可加微量带阳离子的 Na^+、K^+ 等碱金属化合物于测试样品,促使产生阳离子复合物$(M+Ca^{2+})^+$,从而产生明显的带金属离子的分子离子峰和离子碎片,这种离子峰与碎片峰一般比电子轰击法与化学电离法所产生的离子峰更稳定,且强度更高。

三、快原子轰击法

快原子轰击法(fast atom bombardment,FAB)是将样品通常溶解在甘油中由载体引入,分子经快速原子氩轰击后进入质谱仪,可顺利地用以测定如抗生素(vacomycin,相对分子质量 1448)这样的环状糖肽化合物或相对分子质量高达 4084 的一种甲状旁腺激素(parathyroid hormone)。

四、化学电离质谱

化学电离质谱是在高气压($1.333\ 22\times10^2$Pa)下,在质谱仪的离子源中引进反应气体(常用的有甲烷、丙烷、异丁烷、氨、四甲基硅、二甲氨等)。反应气体在 50~70eV 电子轰击下电离成一次电子。以甲烷为例:

$$CH_4 + e \longrightarrow CH_4^+ + CH_3^+ + CH_2^+ + \cdots + 2e$$

这些离子又与反应气体反应产生二次离子:

$$CH_4^+ + CH_4 \longrightarrow CH_5^+ + CH_3$$
$$CH_3^+ + CH_4 \longrightarrow C_2H_5^+ + H_2$$
$$CH_2^+ + CH_4 \longrightarrow C_2H_4^+ + H_2$$
$$C_2H_3^+ + CH_4 \longrightarrow C_3H_5^+ + H_2$$

这些二次离子就是反应气体的主要离子,一般占 90% 左右。各种反应气体所产生的主要离子有甲烷:CH_5^+、$C_2H_5^+$、$C_3H_5^+$;丙烷:$C_3H_7^+$、$C_3H_8^+$;异丁烷:$C_4H_9^+$;氨:NH_4^+、$(NH_3)_2H^+$、$(NH_3)_3H^+$;二甲氨:$(CH_3)_2NH_2^+$、$(CH_3NH_2)_2H^+$、$C_3H_8N^+$。被分析的样品在低得多的气压(0.133 322Pa)下以极低的浓度加到反应气体中,它们与上述反应气体的离子反应,通常产生带一个质子的离子。以甲烷为例,它与分析样品 BH 的反应如下

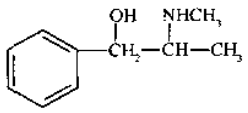
$$CH_5^+ + BH \longrightarrow BH_2^+ + CH_4$$
$$BH_2^+ \longrightarrow B^+ + H_2$$
$$C_2H_5^+ + BH \longrightarrow BH_2^+ + C_2H_4 \text{ 或 } B^+ + C_2H_8$$

其中的离子 B^+,又可继续分裂成一些碎片。在化学电离质谱中,样品直接电离的离子浓度是很小的,一般可忽略不计。它所显示出来的主要是分析样品与反应气体离子作用后所产生的碎片峰,但这些碎片一般比电子轰击质谱简单。

化学电离质谱的最大优点是增强分子离子峰,并易于鉴别杂质的存在。其次,化学电离质谱的图谱简单,近相对分子质量区的峰较明晰,而常用的电子轰击质谱图谱比较复杂,有时近相对分子质量区的碎片峰很少,所以化学电离质谱很有利于结构分析。例如,麻黄素(Ⅰ)的电子轰击质谱不出现分子离子峰,只有 79、69、58 等碎片峰,难以用它们来解释结构。用甲烷为反应气体所形成的化学电离质谱则明显的出现带一个

质子的分子离子峰 166(M+1)及一些主要碎片峰:去水离子峰 148、135(去甲基亚胺)、117(135 碎片去水)、107($C_6H_5CH{=}OH^+$)及 58($CH_3CH{=}NH^+CH_3$)等,就可以清楚地解释 **1** 的化学结构。

当然,化学电离质谱不能完全代替电子轰击质谱,因为它的碎片峰是样品气体与反应气体离子作用而产生的,所得图谱与电子轰击质谱有差别。因此进行结构分析时,往往同时运用两种图谱。在实际操作中要把一般高分辨质谱进行一些改装,使它能在高气压下进行工作,这样既可做电子轰击质谱,又可做化学电离质谱。新的质谱仪器大多数可二者兼用。



1

质谱仪的发展是它与气相色谱串联成 GC-MS,使样品分离与质谱解析直接完成。从而促进了天然产物结构与药物质量分析。后来又进一步发展了质谱与液相色谱串联成 LC-MS 或 LC-MS-MS,这里关键是溶剂的挥发与杂质的处理。这方面接口技术的改进更是日新月异。比较近期的发展有电喷雾电离(electrospray ionization,ESI)与基质辅助激光解吸电离(matrix-assisted laser desorption ionization,MALDI)而联有飞行时间(time of flight,TOF)的 MALDI-TOF-MS 与 ESI-TOF-MS 仪可一次分析几千个生物大分子,从而大大促进了高效筛选(high-throughput screening)药物的进程。

第三节　红 外 光 谱[61,62]

红外光谱是记录有机分子吸收红外光后产生化学键振动而形成的吸收光谱。测定范围一般是 500～4000 cm^{-1},其中 500～1500 cm^{-1}为 C—C、C—O、C—N 等单键区,1500～1800 cm^{-1}为 C═C、C═O、C═N 等双键区,2200 cm^{-1}附近为 C≡C、C≡N 叁键区,3500 cm^{-1}附近为 O—H、N—H 氢键区。最方便的方法是将样品与 KBr 混合压片,它能处理少至 5～10 μg 的样品,由于在压片过程中不可避免地要吸收水分,因而在 3400 cm^{-1}和 1640 cm^{-1}附近常出现吸收峰,如将 KBr 片在 1.333 22×10^2Pa 压力下于 40～50 ℃加热数小时可避免此现象,或样品与石蜡糊(Nujol mull)研磨,它不吸收水分,但在 720 cm^{-1},1378 cm^{-1},1458 cm^{-1},2861 cm^{-1},2919 cm^{-1}处会出现石蜡的弱吸收峰。也可将样品溶解在非极性溶剂($CHCl_3$、CCl_4 等)中测试,但所有溶剂本身都有很强的吸收峰,其强度取决于溶液池的厚度,如溶剂吸收强度大于 80%就无法进行精确的记录。如样品为液体也可制成液膜直接测试。

由于核磁共振谱与质谱的普及,红外光谱的应用范围相对缩小。它主要用于鉴别各种羰基(1500～1800 cm^{-1})、炔烃与腈基(2200～2300 cm^{-1})、羟基与胺基(3500～3600 cm^{-1})等基团。此外也用于核对化合物,当两个化合物的红外光谱所有吸收峰,特别是灵敏的指纹区(500～1500 cm^{-1})的吸收峰完全吻合,则可确定两个化合物的结构完全一致。

一、基 团 振 动

基团振动可分伸缩振动(υ)与变角振动(δ)两种,并可进一步划分,现以次甲基(—CH_2—)振动为例,如图 3-104 所示。

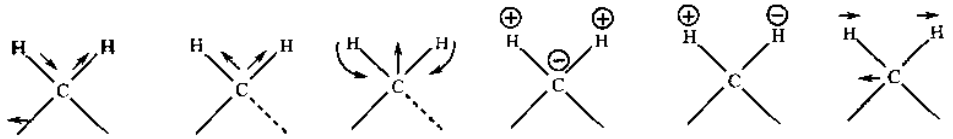


图 3-104

二、特征基团的频率

1. 烯烃

3080～3020 cm^{-1}═CH 的 υ_{as}>3000 cm^{-1}，与烷烃 CH 的 υ(<3000 cm^{-1})相反(表 3-2)。

表 3-2

类 型	δ_{CH}的倍频	$\upsilon_{C=C}$	δ_{CH}(平面)	δ_{CH}(平面外)
单取代烯	1830(w)	1645(m)	1420(w)	990(s),910(s)
亚乙烯基 CH_2═C<	1880(w)	1655(m)	1415(w)	890(s)
二取代烯(顺式)		1660(m)	1415(w)	730～675(s)
二取代烯(反式)		w		965(s)
三取代烯		w		840～800(m)

注：w 表示弱；m 表示中；s 表示强吸收，下同。

2. 醇和酚

(1) O—H 的伸缩振动

游离 OH：3640～3600 cm^{-1}，s。
溶剂化或分子内氢键的 OH：3600～3500 cm^{-1}。
分子间氢键的 OH：3400～3200 cm^{-1}，s，br。
螯合 OH：3200～3500 cm^{-1}，有时很宽，而难以检出。

(2) C—O 伸缩振动

伯-OH 1050 cm^{-1}
仲-OH 1100 cm^{-1}
叔-OH 1150 cm^{-1}
酚-OH 1200 cm^{-1}

(s，br；邻碳上支链化时移向低波数(－15 cm^{-1})，烯丙双键(－30 cm^{-1})，效应是加和性的。

3. 醚

C—O—C：υ_{as} 1150～1070 cm^{-1}，s。
C—O—C═：υ_{as} 1275～1200 cm^{-1}，s；υ_s 1075～1020 cm^{-1}，s。

4. 胺

υ_{NH}的氢键移动少于 100 cm^{-1}。当氨基是“酸性”，如吡咯、吲哚、对硝基苯胺时，吸收带尖而强。

(1) N—H 伸缩振动

RNH_2 和 $ArNH_2$：υ_{as} 3500 cm^{-1}及 υ_s 3400 cm^{-1}，w。
RNHR 和 ArNHR：3400～3300 cm^{-1}。

(2) N—H 变角振动

—NH_2：1640～1560 cm^{-1}，当氢键为面内变角振动时强。
900～650 cm^{-1}，m br，面外变角振动。
—NH—：1580～1490 cm^{-1}，w，非诊断性。

(3) C—N 伸缩振动

$C_{脂族}$—N：1280～1030 cm^{-1}，m。

$C_{芳族}$—N:1360～1250 cm^{-1},s。

(4) —NH_3^+:3000 cm^{-1},s,br,N^+H 伸缩振动,与 CH 峰、铵峰重叠

2500 cm^{-1},几个,为倍频和结合频。

2000 cm^{-1},几个,为倍频和结合频。

1600～1575 及 1500 cm^{-1},非对称和对称的 NH_3^+ 的变角振动。

—NH_2^+:2700～2250 cm^{-1},s,br. υ_{N+H},有时与 υ_{CH}重叠。

1600～1575 cm^{-1},m,δ_{NH_2}。

—NH^+:2700～2250 cm^{-1},s,一个至几个尖峰,与 υ_{CH}很易区分。

(5) C═N^+—H:2500～2300 cm^{-1},s;一个至几个尖峰,"亚胺带"

1680 cm^{-1},m;$\upsilon_{C=N^+}$

(6) CH—N—CH:在 2700～2800 cm^{-1}区有一组弱的吸收带

当两个以上相邻接的 C—H 键与氮的孤对电子成反式时,如 10-甲基反式喹啉里西定育亨宾时可观察到,也称"Bahlmann 吸收带",可用于构象分析。

5. 羰基

所有 C═O 伸缩振动吸收带(1870～1600 cm^{-1})都是强峰,当有共轭、电子、立体、环系大小及氢键效应时会产生可预测的位移,但严格地讲,这类讨论应在稀的非极性溶剂中测定。

(1) 酮

1715 cm^{-1},当低频基础振动的倍频等于 C═O 的伸缩振动时,由于有明显的 Fermi 共振的倾向而产生双峰,如酰氯当 O—CO—C 的键角变大时移向低波数,又如二叔丁基酮 1690 cm^{-1}。

1240～1100 cm^{-1},脂肪酮,强。

1280 cm^{-1},芳香酮和 α-、β-不饱和酮,强。

α-、β-不饱和酮:1675 cm^{-1} s,1280 cm^{-1}左右,s。

共轭和交叉共轭二烯酮:1665 cm^{-1},s;1280 cm^{-1},s。

芳香酮:1690 cm^{-1},s,1280 cm^{-1}左右,s。

七元环酮或大于七元环酮:1705 cm^{-1}。

六元环酮:1715 cm^{-1}。

五元环酮:1745 cm^{-1}。

四元环酮:1780 cm^{-1}。

α-卤代酮:位移 0～+25 cm^{-1},CO 与 CX 的角度越小,位移越大,当角度接近 90 ℃时,位移为 0。

CO—CO(s-反式):1720 cm^{-1}。

CO—CO(s-顺式):υ_{as}/υ_s1760/1730 cm^{-1}(六元环)。

1775/1760 cm^{-1}(五元环)。

═C(OH)—CO:1675 cm^{-1}。

CO—CH—CO:1720 cm^{-1}。

CO—C═C(OH):当游离羟基时 1650 cm^{-1}。

当羟基形成氢键时为 1615 cm^{-1}(与 NH 值一致),强的 $\upsilon_{C=C}$为 1605 cm^{-1}。

CO—C═C(OR):1640 cm^{-1}。

1,2-、1,4-醌:1675 cm^{-1}。

(2) 醛

2850～2720 cm^{-1} υ_{CH},m(尖),常常出现双峰(由于 Fermi 共振与 C═O 伸缩振动而引起),1725 cm^{-1}。

α-、β-不饱和醛：1685 cm^{-1}，s。

二烯醛：1675 cm^{-1}，s。

芳香醛：1700 cm^{-1}，s。

(3) 酸(二聚体)

3000～2500 cm^{-1}宽，一组小吸收带，υ_{OH}与结合频。

1710 cm^{-1}，如为单体出现于 1760 cm^{-1}。

1420 cm^{-1}，$\delta_{面内}$OH 与 υ 间偶合。

1300～1200 cm^{-1}，同上。

920 cm^{-1}，m(常稍宽)，OH 二聚体的 $\delta_{面外}$。

α，β-不饱和及芳香酸(二聚体)：1690 cm^{-1}。

(4) 羧酸盐

1610～1550 cm^{-1}，s，$\upsilon_{asC—O}$。

1410 cm^{-1}，υ_s。

(5) 酯

1735 cm^{-1}。C—O 的 υ_{as}与 υ_s 出现两个峰在 1300～1050 cm^{-1}之间。

α-、β-不饱和酯：1720 cm^{-1}。

芳香酯：1720 cm^{-1}。

乙烯酯：1760 cm^{-1}。

Ar—COO—Ar：1735 cm^{-1}。

α-酮酯：1745 cm^{-1}。

β-酮酯：1735(酯)/1720(酮式)；1650/1630(烯醇式)。

γ-内酯：1735 cm^{-1}；α-、β-不饱和内酯 1720 cm^{-1}；烯醇内酯 1760 cm^{-1}。

δ-内酯：1770 cm^{-1}；α-、β-不饱和内酯 1750 cm^{-1}(当有 αH 时，在 1875/1755 cm^{-1}处成双峰)；烯醇内酯 1800 cm^{-1}。

(6) 酸酐

1820/1760 cm^{-1}，在非环状化合物中 1820cm^{-1}峰强，而在环状化合物中 1760 cm^{-1}峰强。

1300～1050 cm^{-1}由 C—O—C 伸缩振动而产生一个或两个强吸收带 1000～900 cm^{-1}，一个至几个强而宽的吸收带。

琥珀酸酐、马来酸酐、邻苯二甲酸酐类型：1860/1780 cm^{-1}。

α-、β-不饱和六元环酸酐：1780/1735 cm^{-1}。

(7) 亚酰胺

1775w/1745～1700cm^{-1} vs，宽。

(8) 酰氯

1800 cm^{-1}，在—COBr 和—COI 中较低，在—COF 中较高。950～900 cm^{-1}，s，宽；与 C═O 伸缩振动倍频偶合。

(9) 酰胺

在振动中存在强偶合，其主要贡献如下："酰胺带Ⅰ"为 C═O 伸缩振动；"酰胺带Ⅱ"主要是 NH 变角振

动与 C—N 伸缩振动相混合而成;"酰胺带Ⅲ"主要是 C—N 伸缩振动与 N—H 变角振动混合而成。未缔合状态的数值在括号中列出。

CO—NH_2: 3350~3200 cm^{-1},有几个吸收峰(其中有两个在 3500 cm^{-1}和 3400 cm^{-1}处),NH,s。
1650(1690)cm^{-1}酰胺带Ⅰ。
1640(1600)cm^{-1}酰胺带Ⅱ。

CO—NHR: 3300(3440)cm^{-1},NH,s;同时有 3070 cm^{-1},m,酰胺带Ⅱ的倍频。
1655(1680)cm^{-1},酰胺带Ⅰ。
1550(1530)cm^{-1},反式酰胺的酰胺带Ⅱ,在顺式酰胺(内酰胺)中为 1440 cm^{-1},w。
1300(1260),酰胺带Ⅲ。

CO—NR_2:1650 cm^{-1},无氢键,因而对样品的状态不敏感。

C═C—CO—N 及 CO—N—C═C:移动 +15 cm^{-1}。

C═C—CO—N—C═C:移动 −15 cm^{-1}。

δ-内酰胺:1670 cm^{-1}(游离),无取代时;
1640 cm^{-1}(游离),有取代时。

γ-内酰胺:1700 cm^{-1}(游离)。

β-内酰胺:1745 cm^{-1}(游离)。

(10) 其他羰基

R—O—CO—OR 1740 cm^{-1};Ar—O—CO—O—R 1770 cm^{-1};Ar—O—CO—O—Ar 1800 cm^{-1}。
—NH—CO—OR 1705 cm^{-1};—NH—CO—O—Ar 1730 cm^{-1};R—CO—SH1720 cm^{-1}。
R—CO—SR 1690 cm^{-1};Ar—CO—SR 1665 cm^{-1}。
R—CO—S—Ar 1710 cm^{-1};Ar—CO—S—Ar 1685 cm^{-1}。

6. 其他基团

硝基—NO_2:1560 cm^{-1}及 1350 cm^{-1},s。
硝酸盐—ONO_2:1640 cm^{-1}及 1280 cm^{-1},s。
亚硝基—NO:1600~1500 cm^{-1},s。
亚硝酸盐:在 1680~1610 cm^{-1}有两个吸收峰,s。
肟—C═N—OH:3650~3500 cm^{-1},1685~1650 cm^{-1},960~930(υ_{N-O})。
氧化胺—N→O:970~950 cm^{-1}(脂肪族),1300~1200(芳香环),vs。
S—H 伸缩振动:2600~2550 cm^{-1}。
S—CH_2:2700~2630 cm^{-1},υ_{C-H};1420 cm^{-1} δ_{C-H}。
S—Me:2570 cm^{-1},υ_{C-H};1320 cm^{-1} δ_{C-H}。
C═S 伸缩振动:1200~1050 cm^{-1},s。
S—O 伸缩振动:900~700 cm^{-1},s。
S═O 伸缩振动:1200~1400 cm^{-1},s。
SO_2 伸缩振动:υ_{as}1400~1310 cm^{-1}及 υ_s1230~1120 cm^{-1},s。
R—SO_2—N:1370~1330 cm^{-1},1180~1160 cm^{-1}。
S→O 伸缩振动:1080~1030 cm^{-1},vs,形成氢键时低至 1000 cm^{-1}。
P—H 伸缩振动:2440~2350 cm^{-1}。
P—O—C(烷基碳)伸缩振动:1050~1030 cm^{-1},s。
P—O—C(芳香碳)伸缩振动:1240~1190 cm^{-1},s。
P═O 伸缩振动:1300~1250 cm^{-1},s。
P→O 伸缩振动:970~930 cm^{-1},vs。

Si—Me:2150 cm^{-1},υ_{CH};1260 cm^{-1},CH 对称变角振动;860～800 cm^{-1},CH_3 摇摆振动。

Si—O—Si:1100～1000 cm^{-1},一个至几个吸收峰,s。

C—F:1400～1000 cm^{-1},vs。

C—Cl:800～600 cm^{-1},s。

C—Br:600～500 cm^{-1},s。

C—I:500 cm^{-1},s。

第四节 紫外光谱[65]

紫外光谱记录有机分子在吸收紫外光(200～400nm)后产生电子振动而形成的吸收光谱,常用以测定分子内的共轭系统。

一、Beer 定 律

Beer 定律为

$$d \text{ 或 } A = \lg I_0/I = \varepsilon cl$$

式中:d——光密度;

A——消光度;

I_0,I——入射光强度和透过光强度;

ε——1000 cm^2/mol 时的摩尔消光系数;

c——浓度;

l——池的厚度。

当相对分子质量未知时,可用 $E^{1\%}_{1cm}$ 表示,它们之间的关系为

$$E^{1\%}_{1cm} \times \text{相对分子质量} = \varepsilon \times 10$$

能量 E 和光的波长 λ 之间的关系如下

$$E(\text{kcal/mol}) = 28.6 \times 1000/\lambda(\text{nm})$$

ε 值可近似地用下式表示

$$\varepsilon = 0.87 \times 10^{20} Pa$$

式中:P——迁移概率(从 0→1);

a——发色团的横截面积,在多数情况下约为 10$Å^2$。

如果 $P=1$,ε 最大值约为 10^5 实测值 ε 最大值为 10^6 数量级。

二、溶 剂

常用甲醇或乙醇作溶剂,一种溶剂的截波长(cut off wavelength)是由波长和它最长波长的最大吸收值强度决定的。在 10mm 池(如在 1 mm 池,则下列数值应增长 5nm)中某些溶剂的截波长(nm)如表 3-3 所示。

表 3-3

H_2O,MeCN	190	Et_2O,	二氧六环 215
环己烷	195	CH_2Cl_2	220
n-C_6H_{14},MeOH	200	$CHCl_3$	240
$EtOH_2$,$(MeO)_3PO$	200	CCl_4	260

当溶剂极性增加时,极性键的跃迁(如羰基,但不是乙烯类)受溶剂极性的影响其变化如下:① $\pi \rightarrow \pi^*$ 带

发生向红位移(激发态比基态极性更大,因而在极性溶剂中比基态更稳定);② n→π* 带发生向蓝位移(带有2个n电子的基态比仅带有一个n电子的激发态更稳定)。例如,4-甲基-3-戊烯-2酮(mesityl oxide)(**2**)观察到两带向反方向位移(表3-4)。



2

表 3-4

溶剂	π→π*(ε)	n→π*(ε)	Δ
正己烷	230(12 600)	327(98)	97
乙醚	230(12 600)	326(96)	96
乙醇	237(12 600)	315(78)	78
水	245(10 000)	305(60)	60

酮的 n→π* 吸收带:酮的吸收带(饱和酮及 α-、β-不饱和酮)ε10～100,270～330nm,是弱吸收带中最重要的一个。这样的吸收带的测定需要浓溶液,同时由于附近有大的 ε 值吸收带的存在,也使测定困难。然而,从诊断的目的来看它的测定还是很重要的。由于天然产物中的酮基常与强的 n→π* 柯登效应(Cotton effect)有关,因此通常测定 CD 或 ORD 来代替 UV,在 n→π* 区域内检测酮就更简便。

三、各类发色团的吸收值

不饱和发色团的吸收值如表3-5所示。

表 3-5　不饱和发色团的吸收值(大多在乙醇中测定)

发色团	波长/nm	ε	区域	特征
C=C 烯	<190	8000～10 000	π-π*	
	200～210	5000～1000		
C≡C 炔	220	100～200		
C≡N 腈	190			
C=O 酮	<190	2000	π-π*	
	270～300	10～40	n-π*	
CH=O 醛	270～300	10～40	n-π*	
COOH 酸	205～215	50～100	n-π*	
COOR 酯	200～210	50～60	n-π*	
COO—内酯	210～220	100	n-π*	
CO—O—C 酸酐	220	60	n-π*	
CON=酰胺	<180		n-π*	
C=C—C 连烯	225	50		
C=C—O 烯酮	230	400		
	375	20		
N=C=O 异腈酸盐	265	15		
N=C=N 碳二亚胺	230	4000		
	270	25		
—N=N—偶氮化物	350	15～400	n-π*	形成黄色

续表

发色团	波长/nm	ε	区域	特征
C—N^+═N^- 重氮化物	250	强	π-π*	
—N═N 氮化偶氮基	380～400	5	n-π*	形成黄色
—N═N(→O) 氮化偶氮基	215～225	5500～7500		
—N═N(→O) 氮化偶氮基	275～285	40～60		
CON_3—叠氮化物	216	500～540		不受溶剂影响
	285	20～30		不受溶剂影响
C═N—OH 肟	195	2000		
C—NO 亚硝基	300	100		
	650	20	n-π*	形成蓝色
O—NO 亚硝酸盐	220～230	1000～2000		
	315～385	20～85	n-π*	10nm 间隔的 6～7 个带
N—NO 亚硝胺	235	6000～7000		
	350	900～1000		红移和精细结构随溶剂极性而减少
N—NO_2 硝基胺	240	6000～8000	n-π*	
N—C(+)—N 胍正离子	265	15		
C═S 硫羰基	490	15	n-π*	
S—O 亚砜	210～215	1000	n-π*	肩峰
SO_2 砜	<180			

第五节 圆二色谱[65]

圆二色谱(circular dichroism,CD)可记录化合物在紫外光与可见光区所产生的椭圆偏振光的椭圆度与波长的关系。圆二色谱是透过介质后光的吸收曲线,而旋光谱则是它的分散曲线。

比椭圆度: $[\phi]=\phi/lc$

式中:ϕ——椭圆角;

l——池长,dm;

c——浓度,g/mL。

分子椭圆度: $[\theta]=([\phi]\times$相对分子质量$)/100=3300\ \Delta\varepsilon$

微分圆二吸收: $\Delta\varepsilon=\varepsilon_L-\varepsilon_R$

式中,ε_L 为左极化光的 ε_i;ε_R 为右极化光的 ε。

下列关系适用于饱和酮的 n→π* 带:

$$a=40.28\ \Delta\varepsilon \quad 或 \quad a=0.0122[\theta]$$

上述关系可用于除酮类以外的 CD 及 ORD 数据的近似互换。

一、绝对构型的推定

由于一个已知其相对构型的化合物的绝对构型仅有两种可能性,CD 的测定将有助于推出正确的结果。

D 线旋转不能用于构型的分析。即使对酮的八区律(它是最先引入 ORD 和 CD 的规则之一,并对这一领域的发展起了很大的推动作用),用起来也要很小心。

二、酮的八区律

酮的八区律(octant rule for ketone)最初是为估价取代基对环己酮 n→π* Cotton(柯登)效应符号的贡献而发展起来的。环被羰基 n→π* 节面 A 和对称面 B 分成一个象限体(quadrant),B 面垂直于 A 面且切于 c-1 和 c-4,(图3-105～图 3-107)。原先,这象限体还要进一步被第三个垂直于 A 和 B 且通过 $c=0$ 碳的平面等分(因而称八区律),现在第三个面已不再用了。

酮的象限规则:在右下和左上象限的原子或基团对 Cotton 效应贡献为正;相反,在另两个象限的则为负(图 3-107)。a 键取代基的贡献按下列顺序减少:I>Br>Cl>NH_2>OH>Me>OAc>H。

F 的贡献符号相反(见下面 N^+)。e 键取代基的贡献依据它们相对于平面 A 的空间位置可正可负;正好位于平面 A(2e,6e)或 B(4e,4a)内的无贡献。这些规则也近似地可延伸到其他环状和非环的饱和酮类化合物。

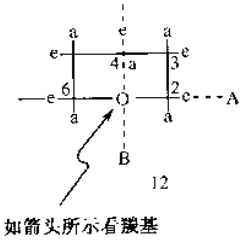


图 3-105　酮的八区律图

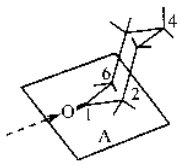


图 3-106

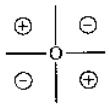


图 3-107

三、CD 激子手性法

当分子中两个相同的具有 π→π* 强吸收的发色团都处于手性位置时,它的紫外吸收是一个发色团吸收时的 2 倍,而 CD 谱则不是,以邻二醇二苯甲酸酯为例(图 3-108),经光照射激发后,两个发色团激发态,又称激子(exciton),它们之间的相互作用就称激子偶合(exciton coupling),此时激发态分裂成两个能级(这两个能级的能量之差称为 Davydov 裂分),而形成两个符号相反的柯登效应(以下略作 CE)。二者的波长相差 $\Delta\lambda$,$\Delta\lambda$ 代表 Davydov 裂分(图 3-108)。这两个 CE(虚线)之和(实线)有两个极大值。长波长和短波长的极大值,分别被称为第一 CE 和第二 CE,而在 ORD 中有三个极大值。如果两个发色团的电子跃迁偶极矩右旋(即顺时针)时,为正激子手性(图 3-109),第一 CE 为正值,第二 CE 为负值。反之,当两个偶极矩左旋(即反时针)时,为负激子手性,第一、第二 CE 值的符号也与上相反。如果确定了发色团中跃迁偶极矩的方向,即跃迁的偏光性的话,根据这两个 CE 的符号便可决定两个发色团在空间的绝对立体化学。这种 CD 激子手性也适用于具有三个或三个以上发色团的化合物,还适用于发色团不同的化合物。

通过对各种二苯甲酸酯 CD 的研究,发现了一般规律:

1) 第一 CE 的 $\Delta\varepsilon_1$ 减去第二 CE 的 $\Delta\varepsilon_2$ 为裂分的幅度 A(图 3-109),A 与发色团之间的距离平方成反比。5α-cholestane-2β,3β-diol bis(*p*-dimethylaminobenzoate)的 A 值为 95,D-homo-5α-androstane-3β,15β-diol bis(*p*-dimethylaminobenzoate)的 A 值为 26。后者的两个发色团之间的距离为 12.8Å 仍有相当强的裂分,表明激子手性法应用范围较大。

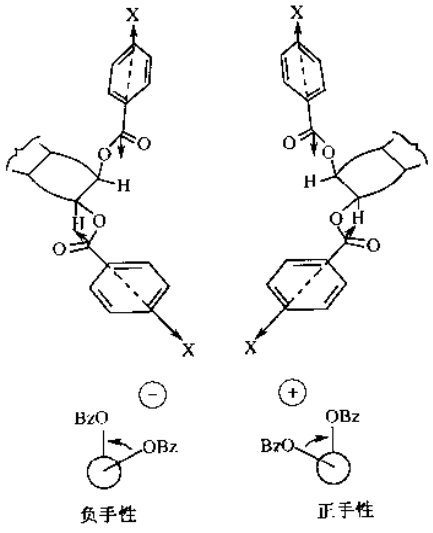


图 3-108　邻二醇二苯甲酸酯的手性示意图

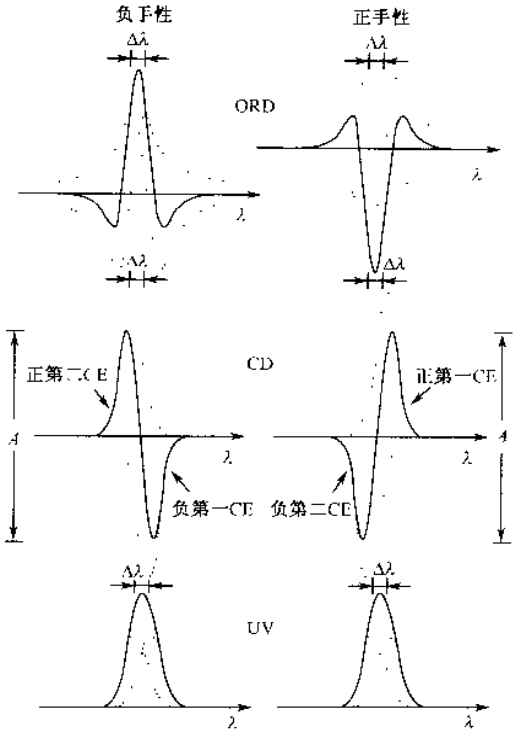


图 3-109 Davydov 裂分

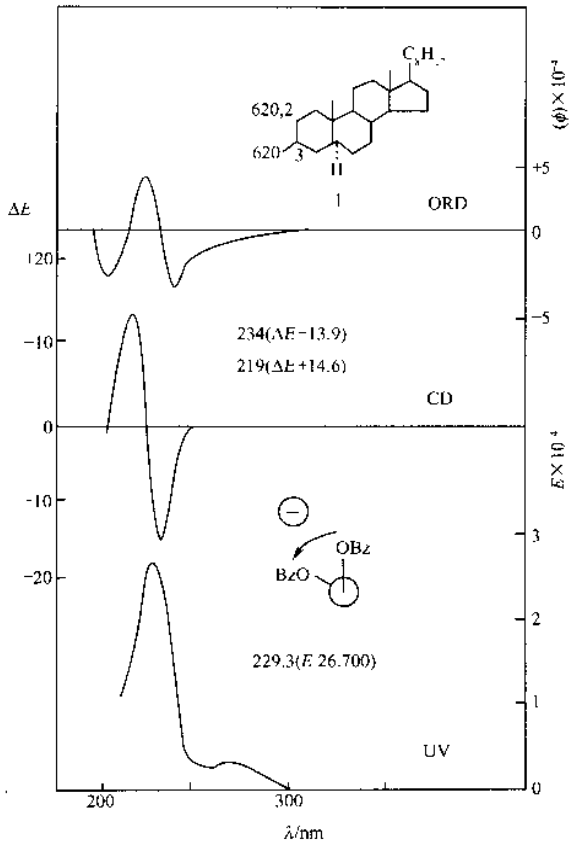


图 3-110 5α-胆甾-2α,3β-二醇三苯甲酸酯(1)的 ORD、CD 及 UV 谱

2) CE 的波长及 A 值取决于对位取代基。当分子内有其他发色团干扰时，可选用不同对位取代基的苯甲酸酯(即 CE 波长不同)，避免原有发色团的干扰。A 值随对位取代苯甲酸酯的摩尔消光系数 ε_{max} 增加而增加，对二甲氨基取代的 A 值最大，对硝基的 A 值最小。

3) 邻二醇二苯甲酸酯 CD 的 A 值与两个发色团之间的两面角(dihedral angle)有关。在 70°左右最大，0°及 180°时为零。裂分 CE 的符号与两面角大小无关，而与两面角的符号一致。

4) 当两个发色团不同时，激子手性法仍可运用。它们的 λ_{max} 差别越大，CD 的 A 值越小。例如，苯甲酸酯 λ_{max} 为 230nm，对二甲氨基苯甲酸酯为 311nm。在同一分子中这两个基团之间仍有激子偶合。

[例 1]　1,2-二醇类

先将脂环上 1,2-二醇转化为二苯甲酸酯，再测定基 CD。根据激子手性规则可推定二醇的绝对构型。例如，2α,3β-二羟基-5α-胆甾烷中的邻二醇，处在椅式环己烷环上，其二苯甲酸酯(1)呈负性裂分 CD(图 3-110)，据此可确证此邻二醇的 2,3-位绝对构型为 2α,2β。

[例 2]　土槿皮乙酸

土槿皮乙酸是中药土槿皮(*Pseudolarix kaempferi* Gorden)中主要抗真菌成分。其化学结构已经物理及化学方法证明，并确定了分子中四个手性中心的相对构型。土槿皮乙酸的 CD 谱(图 3-111)中在 252.5nm 有一个负的柯登效应($\Delta\varepsilon$ −10.4)，在 218nm 有一个正的柯登效应($\Delta\varepsilon$ +23.8)，即呈现负的激子手性。结构中有两个共轭系统，一个是共轭烯酸酯，另一个是共轭二烯酸，两者的 $\pi\rightarrow\pi^*$ 跃迁相互偶合引起 CD 的裂分[67]。

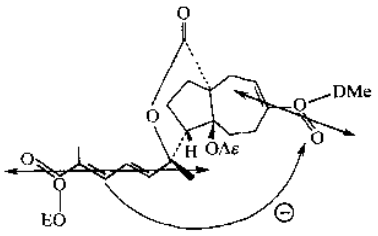


图 3-111　土槿皮乙酸

参 考 书 目

Barton D H R et al. Comprehensive Natural products Chemistry. New York: Elsevier Science, 1999, 1～9

Nakanishi K et al. Natural Products Chemistry. New York: Academic Press, 1974～1983, Vol. 1～3

林启寿. 中草药成分化学. 北京：科学出版社，1977

姚新生. 天然药物化学. 第二版. 北京：人民卫生出版社，1988

徐任生，陈仲良. 中草药分子成分提取与分离. 第二版. 上海：上海科技出版社，1983

参 考 文 献

[1] Breitmaier E. Structure Elucidation by NMR in organic Chemistry. John Wiley & Sons, 1993

[2] Pretsch E et al. Tablen zur Strukturaufklarung Organischer Verbindungen mit Spektroskopischen Methoden. Berlin: Springer-Verlag, 1981

[3] Breitmaier E et al. Carbon-13 NMR Spectroscopy. New York: VCH, 1990

[4] Atta-ur-Rahman. One and two-Dimensional NMR Spectroscopy. New York: Elsevier, 1989

[5] Jeremy K M et al. Modern NMR Spectroscopy. UK, Oxford: Oxford University Press, 1993

[6] Kessler H et al. Two-Dimensinal NMR Spectroscopy: Background and Overview of the Experiments. Inter Ed: Angewandte Chemie, 1988, 27/4: 447～592

[7] 姚新生等. 超导核磁共振波谱分析. 北京：中国医药科技出版社，1991

[8] 于德泉等 核磁共振谱在中草药化学成分结构测定中的应用. 中草药现代研究(仪器分析卷)，北京：北京医科大学中国协和医科大学联合出版社，1999

[9] 宁永成. 有机化合物结构鉴定与有机波谱学. 第二版. 北京：科学出版社，2000

[10] Piantini U et al. J Am Chem Soc, 1982, 104: 6800

[11] Shaka A J et al. J Magn Reson, 1983, 51: 169

[12] Muller N et al. J Am Chem Soc, 1986, 108: 6482

[13] Sorensen O W et al. J Magn Reson, 1982, 46: 180

[14] Gary E et al. Inverse-Detected Two-Dimensional NMR Methods: Applications in Natural Products Chemistry. J Nat Prod, 1991, 54/1: 1

[15] Bax A et al. J Magn Reson, 1986, 67: 565

[16] Bax A et al. J Am Chem Soc, 1986, 108: 2093

[17] Davis D G et al. J Am Chem Soc, 1985, 107: 2821

[18] Edwards M W et al. J Am Chem Soc, 1986, 108: 918

[19] Bax A et al. J Magn Reson, 1985, 63: 207

[20] Kessler H et al. J Am Chem Soc,1984,106:607
[21] Wu H et al. Huang Minlon Symposium on Organic Chemistry. Shanghai:Abstracts,1989,Nov:7
[22] 汪猷等.天花粉蛋白.北京:科学出版社,2000. 350
[23] Xu J P et al. Chinese Chemical Letters,1991,2(4):299
[24] Xu J P et al. Journal of Natural Products,1992:1124
[25] Zhao W M et al. Chinese Chemical Letters,1994,5:309
[26] Zhao W M et al. Journal of Natural Products,1994,57:1613
[27] Zhao W et al. Phytochemistry,1996,42:827
[28] Zhao W et al. Natural Products Sciences,1996,2:14
[29] Ma B X et al. Chinese Chemical Letters,1994,3:219
[30] Ma B X et al. Journal of Natural Products,1997,60:134
[31] Shao Y et al. Chinese Chemical Letters.1994,5:839
[32] Shao Y et al. Journal of Natural Products,1995,58:837
[33] Shao Y et al. Chinese Chemical Letters,1994,5:941
[34] Shao Y et al. Phytochemistry,1995,39:875
[35] Shao Y et al. Planta Medica,1995,61:246
[36] Shao B et al. Phytochemistry,1995,38:1473
[37] Shao B et al. Phytochemistry,1996,42:821
[38] Ma Ji et al. Chinese Journal of Chemistry,2001,19(6):606
[39] Fang S et al. Journal of Natural Products,1996,59:304
[40] Li N et al. Chinese Chemical Letters,2000,11:343
[41] Zhang M et al. Journal of Natural Products,1994,57:155
[42] Zheng P U et al. Glycoconjugate Journal,2000,17:749
[43] Wu H M et al. Kunming:Abstracts,1997,8:12
[44] Wu H et al. Natural Products Letters,1994,5:89
[45] Zhao Y R et al. Chinese Chemical Letters,1994,5:127
[46] Zhao Y R et al. Phytochemistry,1995,40:1453
[47] Zhao Y R et al. Chinese Journal of Chemistry,1995,13:267
[48] Zhao Y R et al Acta Botanica Yunnanica,1995,17:463
[49] Zhao Y R et al. Acta Botanica Yunnanica,1995,17:463
[50] Zhao Y R et al. Chinese Chemical Letters,1995,6:1041
[51] Zhao Y R et al. Chinese Chemical Letters,1996,7:149
[52] Zhao Y R et al. Chinese Chemical Letters,1996,7:237
[53] Zhao Y R et al. Chinese Chemical Letters,1994,5:751
[54] Wang Y C et al. Phytochemistry,1998,49:1453
[55] Shi J X et al. Chinese Chemical Letters,1999,10:299
[56] Nakamura H et al. Tetrahedron Letters,1983:24(38):4105
[57] Nakamura H et al. Tetrahedron Letters,1984,25(28):2989
[58] Wu H et al. Tetrahedron Letters,1984,25(34):3719
[59] Nakamura H et al. Journal of Organic Chemistry,1985,50(14):2494
[60] Wu H et al. Agelas nakamurai Hoshino Japan:Bulletin of Chemical Society,1986,59(8):2495
[61] Nakanishi K et al. Infrared Absorption Spectroscopy. San Francisco:Holden-Day Inc.,1977
[62] Coleman P B. Practical Sampling Techniques for Infrared Analysis. Boca Raton:CRC Press,1993
[63] Smith R M et al. Understanding Mass Spectra-A Basic Approach. New York:John Wiley & Sons Inc,1999
[64] Busch K L et al. Mass Spectrometry/Mass Spectrometry,Techniques and Application. New Youk:VCH Publisher,1988
[65] Nakanishi K et al. Natural Products Chemistry. New York:Academic Press,1974～1983,1
[66] 丛浦珠.质谱学在天然有机化学中的应用.北京:科学出版社,1987
[67] 应百平等.化学学报,1988,46:85

(吴厚铭)

第四章 生 物 碱

第一节 概 述

生物碱一般是指植物中的含氮有机化合物(蛋白质、肽类、氨基酸及维生素 B 除外)。现在,除植物以外,人们从海洋生物、微生物、真菌及昆虫的代谢产物中发现了不少含氮化合物,有时也称它们为生物碱。因此广义地讲,生物界所有含氮的有机化合物都可称为生物碱。

生物碱是科学家们研究得最早的一类有生物活性的天然有机化合物。在我国,赵学敏在《本草纲目拾遗》中记载,17 世纪初《白猿经》即记述了从乌头中提炼出砂糖样毒物做箭毒用,用现代的经验分析推测,它应该是乌头碱。在欧洲,1806 年德国科学家 Sertürner 第一次从鸦片中分得了吗啡,因它具有碱性,曾称之为植物碱(vegetable alkalis)。不久以后,1810 年西班牙医生 Gomes 从金鸡纳树皮中分得结晶 cinchonino,后来证明它主要是奎宁(quinine)与辛可宁(cinchonine)的混合物。1819 年,W. Weissner 把这类植物中的碱性化合物统称为类碱(alkali-like)或生物碱(alkaloids)。生物碱一名沿用至今。

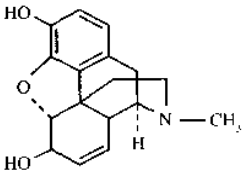
生物碱类化合物大多具有生物活性。这类化合物往往是许多药用植物,包括许多中草药的有效成分。例如,阿片中的镇痛成分吗啡,止咳成分可待因,麻黄的抗哮喘成分麻黄碱,颠茄的解痉成分阿托品,长春花的抗癌成分长春新碱,黄连的抗菌消炎成分黄连素(小檗碱),等等。生物碱能与酸结合成盐而溶于水,易被体内吸收。它们又大多具有复杂的化学结构。由于上述的特点,生物碱一直吸引着有机化学家们研究的兴趣并经久不衰。到目前为止已报道的生物碱并搞清化学结构的已达 4000 多种,并且还以每年上百个的速度递增。同时,还发现了在植物中含量极微、化学结构复杂的含氮大环化合物,如具有抗癌活性的美登素,它的全合成也已报道。近年来,生物碱的分离、结构鉴定与全合成工作依然是天然有机化学的重要研究领域。

生物碱是许多药用植物与中草药的有效成分。在许多情况下,含量最高的生物碱往往是主要的有效成分。但也有例外,如百部为止咳、杀虫中药,但百部生物碱只有杀虫作用,其止咳作用,尚未见报道。又如乌头碱是乌头的主要成分,但它的强心止痛成分并不是乌头碱,而是含量极微的去甲乌头碱(*dl*-demethyl-coclaurine 或 higenamine)。长春新碱与美登素也分别是长春花与美登木的微量成分。这种含量与生物活性的关系都是不能忽视的。

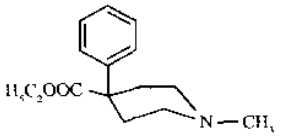
生物碱在植物中的分布较广,其中双子叶植物类的豆科(Leguminosae)、茄科(Solanaceae)、防己科(Manispermaceae)、罂粟科(Papaveraceae)、毛茛科(Ranurculaceae)和小檗科(Berberidaceae)等科属含生物碱较多。有的在根皮或根茎中含量较高,有的则主要集中于种子或果实。生物碱在植物中的含量高低不一,如金鸡纳树皮中含生物碱高达 1.5%以上,而长春花中的长春新碱含量仅为百万分之一,美登木中美登素含量更微,仅千万分之二。一般含量在千分之一以上就算比较高了。由于同一植物中的生物碱往往来源于同一个前体,因此它们的化学结构往往类似。同科同属中的生物碱也往往属于同一结构类型。因而,研究生物碱结构时首先要鉴定植物品种并对同属植物中的生物碱情况有所了解,掌握有关它们的生源知识将有助于化合物的鉴别和结构推定;否则会使研究工作走上弯路。由于中草药植物的品种、俗名与学名有不少混乱,在研究工作开始之前更需确切鉴定植物品种。例如,市售清风藤经鉴定为防己科的防己 *Sinomenium acutum* Rehd,其中主要含防己碱(sinomenine,又称清藤碱)与清风藤碱(sinoacutine),而真正的清风藤属清风藤科(Sabiaceae),并不含生物碱。

由于植物的科属是按形态分类的,而生物碱则是它们的内在成分,有时并不能仅仅根据植物的科属预言它们所含的生物碱成分,这二者之间没有绝对的相关性。例如,茜草科的吐根含吐根碱(emetine)高达 2%,而同科的栀子,茜草则不含生物碱。又如毛茛科乌头属(*Aconitum*)、翠雀花属(*Delphilium*)含生物碱较多,而同科的银莲花属(*Anemone*)、毛茛属(*Ranunculus*)和金莲花属(*Trollius*)等则不含生物碱。有时同科属植物的化学成分也有不少差别,因而提出了以植物的成分来修正或补充形态分类的不足,形成了植物的化学分类学(chemotaxonomy)。

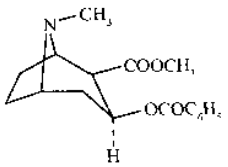
生物碱是天然有机化合物中最大的一类化合物。各类生物碱的结构千差万别，变幻无穷。科学家们在阐明化学结构的同时也研究它们的结构与疗效的关系，同时进行结构改造，寻求疗效更高，结构更为简单并且易于大量生产的新型化合物。例如，人们对吗啡(**1**)的研究发展了异喹啉类生物碱的研究，并导致镇痛药杜朗丁(dolantine，**2**)的发现。又如可卡因(cocaine，**3**)的研究发展了莨菪类生物碱化学研究并导致局部麻醉药普鲁卡因(procaine，**4**)的产生。由此可见，人们对生物碱的研究大大促进了天然有机化学与药物化学的发展，它也是天然有机化学与药物化学研究的基础。



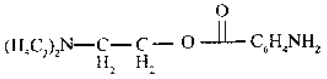
1



2



3



4

生物碱在植物体内一般被认为是次级代谢产物，起着保护或促进植物生长与代谢的作用，但它们的真正作用还不清楚，因为一些不含或微含生物碱的植物或生物同样生长发育良好。因此生物碱在生物体内的功能有待今后研究解决。

第二节　生物碱的性质与鉴别

生物碱大多为无色结晶性化合物(少数为液体)，有明显的熔点与旋光，味苦，易溶于有机溶剂，一般不溶于水。除酰胺生物碱外，大多为碱性。碱性强弱不等，一般能与无机酸或有机酸成盐而溶于水，但生物碱与某些特殊的无机酸(如硅钨酸、磷钨酸)及一些有机酸(如苦味酸等)成盐后不溶于水，常利用此性质鉴别和分离生物碱。酚性生物碱也能溶于碱水溶液，因而具有两性反应。例如，吗啡既能与酸结合成盐又能与苛性碱成盐。季胺类生物碱一般能溶于水，属水溶性生物碱，提取时应特别注意。

生物碱与许多试剂显不同的颜色，常见的有以下几种：

1) Mandelin 试剂为 1% 钒酸铵的浓硫酸溶液。它与阿托品显红色；奎宁显淡橙色；吗啡显蓝紫色；可待因显蓝色；士的宁显蓝紫色到红色。

2) Fröhde 试剂为 1% 钼酸钠或 5% 钼酸铵的浓硫酸溶液。它与乌头碱显黄棕色；吗啡显紫色转棕色；可待因显暗绿色至淡黄色；黄连素显棕绿色；秋水仙碱显黄色；阿托品和士的宁等不显色。

3) Marquis 试剂为 30% 甲醛溶液 0.2 mL 与 10 mL 浓硫酸混合。它与吗啡显橙色至紫色；可待因显洋红色至黄棕色；古柯碱和咖啡碱不显色。

4) 浓硫酸与秋水仙碱显黄色；可待因渐显淡蓝色；小檗碱显绿色；阿托品、古柯碱、吗啡及士的宁等不显色。

5) 浓硝酸与吗啡显红蓝色至黄色；可待因显黄色；士的宁显黄色；乌头碱显红棕色；阿托品、古柯碱、咖啡碱不显色。

6) 浓盐酸与藜芦碱显红色；小檗碱在加氨水情况下可显红色；其他大部分生物碱均不显色。

鉴别生物碱常用的试剂为碘化铋钾(dragendorff)试剂。其配制方法：溶液Ⅰ为 0.85 g 次硝酸铋溶于 10 mL 冰醋酸及 40 mL 水中；溶液Ⅱ为 8 g 碘化铋钾溶于 20 mL 水中。取溶液Ⅰ、溶液Ⅱ等体积混合液 1 mL 与 2 mL 乙酸、10 mL 水混合即可用于显色试验。加入该试剂的含生物碱试液显棕黄色。

第三节 生物碱的提取与分离

生物碱在植物体内常与有机酸(如咖啡酸、枸橼酸、草酸、罂粟酸等)结合成盐。所以提取生物碱时,生药粉末可直接用乙醇、稀乙醇(60%～80%)、水或酸水(一般用0.5%～1%硫酸或乙酸)浸泡,渗漉或加热提取。提取液蒸去水或乙醇后,将所得胶质用2%左右稀酸水提取生物碱。如用稀醇提取,则所得浓水液加酸酸化,滤清酸水,用乙醚、氯仿洗涤,酸液用氨水、碳酸钠或石灰溶液碱化,游离出来的生物碱分别用乙醚、氯仿提取,即得总生物碱。如含有水溶性生物碱,则留在溶剂提取后的水溶液中。这个方法所得的生物碱含杂质较多,但用乙醇比较经济、安全,所以适用于工业生产。也可将稀醇提取液通过大孔树脂柱吸附,然后用水洗净柱体,再用稀酸洗脱,浓缩可得总碱,如用不同浓度的醇洗脱,分别浓缩,则可初步分离总碱。

如用酸水提取,则将酸水液通过强酸性或弱酸性阳离子交换树脂,交换后,用水冲洗柱体,稀氨水洗脱,浓缩洗脱液,即得总生物碱,或者用稀碱(NaOH)等洗脱,洗脱液用有机溶剂提取生物碱,或加酸使析出生物碱的盐。如用稀酸洗脱,洗脱液浓缩得到生物碱的盐。除用离子交换法以外,也可以将水提液加饱和盐水盐析,使生物碱或其盐类沉淀析出;或水提液浓缩后加碱碱化;或同时加盐水盐析,用氯仿等溶剂提取。有时加选定的酸于水提液中,使生成不溶于水的盐析出。

生物碱也可用氯仿、二氯甲烷或苯等与水不相混溶的溶剂提取。提取时应先将生药粉末与少量碱水(如1%左右氨水、碳酸钠或石灰水溶液)拌匀或磨匀至湿润为止,使生物碱转成游离状态,继用与水不相混溶的有机溶剂浸泡或渗漉(溶剂用量一般约为生药量的10倍),浸出液中的生物碱用稀酸水(如1%～2%盐酸)提取3～5次,至提取液不含生物碱为止。这时生物碱与酸成盐而转溶于酸水。酸水液滤清后,用乙醚或氯仿洗涤几次以除去一些脂溶性杂质,但有些生物碱盐也能溶于氯仿,因此含生物碱的氯仿洗涤液需再次处理。此后,酸水加碱水碱化,如有沉淀或结晶析出,滤出重结晶。碱水液先用乙醚,后用氯仿等溶剂分别提取3～5次,提取溶剂再用水洗涤1～2次以除去水溶性成分及碱水,用无水碳酸钾干燥,分别蒸干溶剂,常可借此分得两种性质不同的总生物碱。这样,有时乙醚提取不完全,则氯仿又可补充提取,但氯仿提取液中常含杂质较多,增加了分离工作的难度。提取溶剂可在碱化前即加入,这样,碱化时刚游离出来的生物碱立即转入有机溶剂,提取效率较高。这个方法用极性较小的溶剂提取,又在室温进行,所以得到的生物碱比醇提法纯净,而用苯提取时纯度更高,并可同时去除油脂,但苯有毒性大、易燃的缺点,应尽量避免使用。氯仿也属有毒溶剂,如用二氯乙烷则毒性降低。

弱碱性生物碱在植物中往往以游离状态存在,因此可以用苯、氯仿等有机溶剂直接提取,而强碱仍以盐的状态留在植物体内。提取前应先用适量水湿润生药,使植物细胞膨胀后再用有机溶剂提取,以提高提取效率,或用稀的有机酸,如柠檬酸水等湿润生药,以便使一些中等强度的碱也能成盐而留在植物体内,再用有机溶剂提取。提取液经酸水抽提,酸水液碱化,氯仿抽提即得弱碱部分的总碱。例如,生药用水或稀醇提取,浓缩提取液,则因生药中常含一些有机酸而使浓缩液呈弱酸性,用氯仿等有机溶剂振摇,即可将游离弱碱提出(如喜树渗漉液浓缩后,pH为5.4,直接用氯仿可提取到喜树碱)。

水溶性生物碱和季铵碱不能被一般有机溶剂从水溶液中提出。可先加酸使溶液呈酸性,再通过阳离子交换树脂或加雷氏铵盐(Reineckate ammonium,$NH_4[Cr(NH_3)_2(SCN)_4]\cdot H_2O$)、磷钨酸、硅钨酸等,使呈不溶于水的复盐析出,再通过树脂或用化学方法提出游离碱。此外,也可用丁醇或戊醇等从碱水溶液中直接萃取,如益母草中的水溶性成分益母草碱甲就是用戊醇提出的。

挥发性生物碱(如麻黄碱)可以用水蒸气蒸馏法提取,而易升华的生物碱可用升华法提取(如将茶叶末直接加热升华后,冷凝即得咖啡碱)。现在超临界流体提取(SFE)已逐渐普及,也可用于生物碱的提取(见参考书目[7])。

用上述方法提取所得的总生物碱,应先用薄层层析检测含多少生物碱,各组分的大致比例,然后再选用下列方法分离与纯化。

(1)分步结晶

利用各种生物碱在不同溶剂中的不同溶解度以达到分离目的,先将总碱溶于少量乙醚、丙酮或甲醇,放

置，如果析出结晶，过滤，母液浓缩至少量或加入另一种溶剂往往又可得到其他生物碱结晶。

(2)制备衍生物

许多生物碱的盐往往比游离碱更易于结晶，因此可利用其盐在各种溶剂中的不同溶解度进行分离，分纯后再使其转成游离碱。常用作制备盐的无机酸有盐酸、硝酸、硫酸、磷酸、氢溴酸、氢碘酸及过氯酸。有时也用氯金酸和氯铂酸。有机酸有酒石酸、草酸、水杨酸、苦味酸和苦酮酸。其中以氢碘酸盐、过氯酸盐及苦味酸盐最易成结晶。含仲胺碱及叔胺碱的总碱可以利用仲胺与亚硝酸(常用 $NaNO_2 + H_2SO_4$)成亚硝基衍生物，与氯乙酰或氯甲酸乙酯生成相应的酯，而叔胺则不起作用，使两者分离。仲胺衍生物加酸水解后又得原物。例如，石榴皮中的异石榴碱(isopelletierine)和甲基异石榴碱的分离即利用氯甲酸乙酯使前者生成相应的氨基甲酸乙酯(沸点 150～165℃，1733Pa)，而和后者(沸点 114～117℃，3466Pa)不起作用，可蒸馏分开，石榴皮碱的氨基甲酸乙酯与浓盐酸加热至 120～130℃即析出纯石榴皮碱，同时放出二氧化碳及氯乙烷。有些总生物碱含酚性及非酚性生物碱，则可利用酚性化合物的弱酸性能与苛性碱生成可溶于水的酚盐这一性质而与非酚性生物碱分开。

(3)利用不同酸碱度

碱度不同的混合生物碱在酸水溶液中加适量的碱液，有机溶剂萃取，则弱碱先游离析出转入有机溶剂层。强碱与酸成盐仍留在水溶液中。如逐步添加碱量，则游离出生物碱的碱性强度也逐步增强；反之，将总碱溶于有机溶剂，添加不足以中和总碱的适量酸水提取，则强碱先成盐而优先转入酸水层，提取得到生物碱的碱度随添加酸水量的增加而减弱。根据上述原理，可分离不同碱度的生物碱。操作时可用 pH 控制，或把添加的酸碱分成几个等份，如将总碱溶于计算量(即中和每克总碱至酸性时所耗酸的量，可预先小量试验求出)的酸中，加一定量的碱中和一部分(1/5 或 1/10)酸，用有机溶剂萃取，然后再加 1 份碱，再用溶剂提取，这样即可得 5 份或 10 份先弱后强的不同碱度的生物碱。例如，加入酸计算量为 100 mL 0.1 mol/L 盐酸，则每次加碱 0.1 mol/L 氨水 20 mL 或苛性碱 10 mL，即得相应 5 份和 10 份不同碱度的生物碱。如所加碱的浓度为 1 mol/L，则相应的只需加 2 mL 或 1 mL。也可直接用不同 pH 的缓冲液提取。

(4)分馏

由不同沸点组成的液体生物碱总碱，往往可以通过常压或减压分馏分离。例如，毒芹(*Conium maculatum*)中的毒芹碱和羟基毒芹碱、石榴皮中的伪石榴皮碱、异石榴皮碱和甲基异石榴皮碱等都可通过减压分馏法分离出来。

(5)色谱法

当用一些简便方法还未能达到分离目的时，往往采用柱色谱层析法，目前常用硅胶柱在低压下快速分离，分离前先用薄层色谱选择最佳分离的溶剂系统，再行层析。氧化铝层析也是用得比较多的分离方法，这是由于许多生物碱极性较小，氧化铝对它们吸附较小，而杂质常被吸附，有时也可用凝胶层析，利用它的分子筛原理将不同相对分子质量的生物碱进行分离。常用亲脂性葡聚糖凝胶 Sephadex LH-20，用甲醇或氯仿-甲醇混合液洗脱。

上述方法分得的单体均需经薄层层析检查纯度，单体必须是单一斑点，结晶必须经重结晶后晶体均匀，色泽均匀。熔距短(1～2℃以内)，^{1}H-NMR 及 MS 谱中无杂质信号。有时还需用气相色谱层析和高效液相色谱层析经紫外(UV)、蒸发光散射(ELSD)或视差分析仪检查纯度。具体方法及实验可参考徐任生，陈仲良主编的《中草药有效成分的提取与分离》一书的有关章节及本章末介绍的有关参考书。

第四节 生物碱的分类

由于生物碱包括了一切天然有机物中的含氮化合物，近 200 年来的研究导致了几千个新生物碱的发现。为便于研究，人们将它们按化合物结构类型或者生物合成途径进行分类。然而由于新型化合物的不断涌现，

老的分类方法经常被新型化合物的出现而冲破，现在已越分越细，如异喹啉生物碱是一个大类，目前已细分为吗啡类(morphine)、苄基异喹啉类(benzylisoquinoline)、阿朴芬类(aporphine)、普鲁托品类(protopine)、双分子阿扑芬类(dimeric aporphine)、双苄基异喹啉类(bisbenzylisoquinoline)等。

鉴于本书主要是介绍各类化合物化学，不是包罗万象的百科全书，因此没有罗列所有类别的化合物。本章选择一些常见的生物碱结构类型，如异喹啉类、喹啉类、吡咯烷类、吲哚类等，选择我国天然产物与中草药研究人员的工作，注重介绍波谱学方法，也选了一些经典的方法，以便读者有较全面的了解。

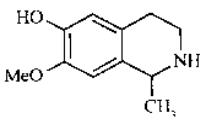
第五节 异喹啉类生物碱

一、结构特征与谱学特征

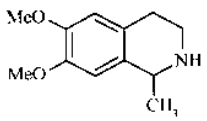
异喹啉生物碱是最大的一类生物碱，以异喹啉或四氢异喹啉为母核，根据连接基团的不同，又可分为九类。

1. 异喹啉(isoquinoline)类生物碱

最简单的为鹿尾草(*Salsola richteri* Kar.)中的降血压成分鹿尾草碱(salsoline，**5**)与鹿尾草定(salsolidine，**6**)。



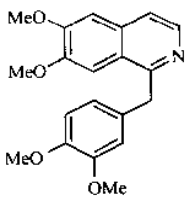
5



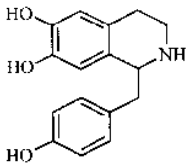
6

2. 苄基异喹啉(benzylisoquinoline)类生物碱

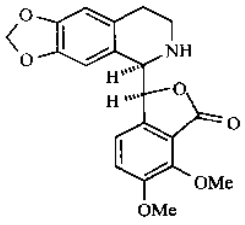
一般的异喹啉核的1位接有苄基，如阿片中有解痉作用的罂粟碱(papaverine，**7**)、乌头中的强心成分去甲乌药碱(demethyl coclaurine，**8**)等，也可包括阿片中所含的内酯环的那可汀(narcotine，**9**)。



7



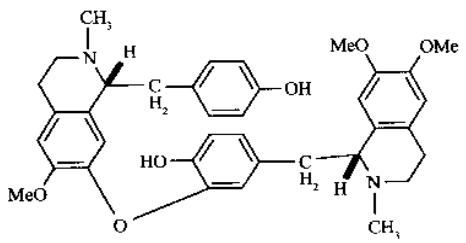
8



9

3. 双苄基异喹啉(bisbenzylisoquinoline)类生物碱

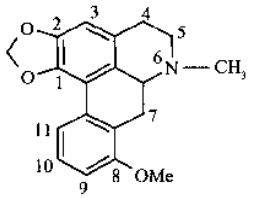
由两个苄基异喹啉在酚羟基位置以醚键方式相连。有单醚、双醚和三醚等，如以喹啉环为头，苄基为尾，则有尾尾相连、头尾相连、头头相连等多种形式。例如，莲子芯中的莲心碱(**10**)属头尾相连的单醚类生物碱。



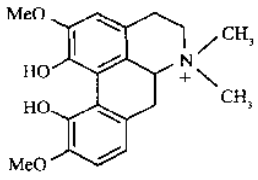
10

4．阿扑芬(aporphine)类生物碱

阿扑芬类生物碱由苄基异喹啉生物碱与1位相连组成四环化合物，如千金藤碱(stephanine，**11**)、广玉兰中的季胺生物碱木兰花碱(magnoflorine，**12**)。



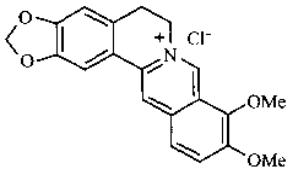
11



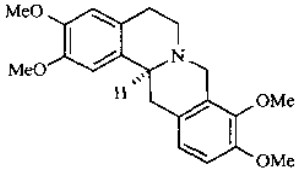
12

5．原小檗碱(protoberberine)类生物碱

原小檗碱类生物碱为两个异喹啉环的稠合，如黄连与三棵针等植物所含的抗菌成分小檗碱(黄连素，berberine，**13**)、延胡索中的镇静止痛成分延胡乙素(四氢巴马汀，tetrahydropalmatine，**14**)。



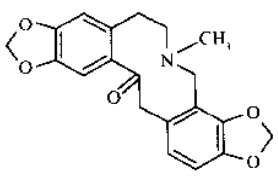
13



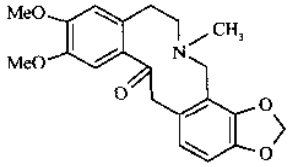
14

6．普罗托品(protopine)类生物碱

延胡索中常见的普罗托品(**15**)、隐品碱(cryptopine，**16**)，它们实际上是含羰基的小檗碱开环化合物。



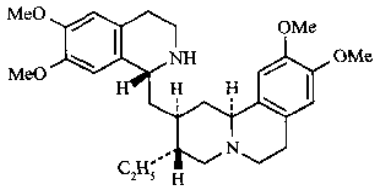
15



16

7．吐根碱(emetine)类生物碱

吐根碱类生物碱为异喹啉环带苯骈喹啉啶(benzoquinoline)环。吐根碱(**17**)为吐根(*Uragoga ipecacuanha* Baill.)中治阿米巴痢疾的有效成分。



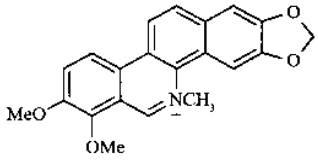
17

8．α-萘菲啶(α-naphthaphenanthridine)类生物碱

α-萘菲啶类生物碱如博落回[*Macleaya cordata* (Will) R. Br.]中的血根碱(sanguinarine，**18**)与白屈菜红碱(chelerythrine，**19**)。



18



19

9. 吗啡(morphine)类生物碱

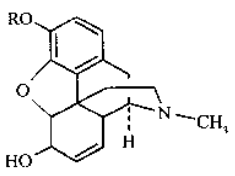
吗啡类生物碱(**1**)。



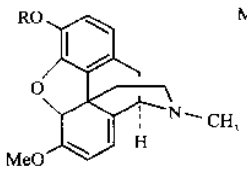
在上述的九类生物碱中文献报道的仍以苄基异喹啉类最多,估计已达 300 个以上。

二、阿片生物碱

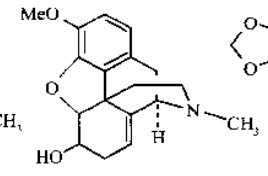
阿片由罂粟(*Papaver somniferum* L.)未成熟果实的胶汁晾干而成,为黑褐色固体。它含生物碱 15%～20%,其主要组分的 6%～12%为吗啡(morphine,**1**)、4%左右为那可汀(narcotine,**9**)、0.6%～2%为可待因(codeine,**20**)、0.3%～1%为蒂巴因(thebaine,**21**)、约 0.2%为罂粟碱(papaverine,**7**)。其他尚有东罂粟碱(oripavine,**22**)、尼奥品(neopine,**23**)、那碎因(narceine,**24**)、隐品碱(cryptopine,**16**)、罂粟壳碱(narcotoline,**25**)等三十多种微量生物碱。表 4-1 仅列出其中的一部分阿片生物碱。



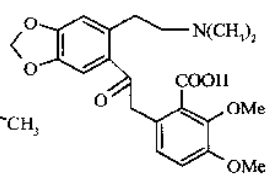
1 R=H
20 R=CH_3



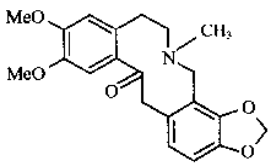
21 R=CH_3
22 R=H



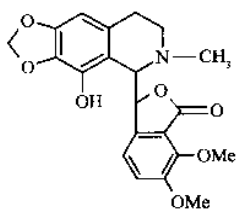
23



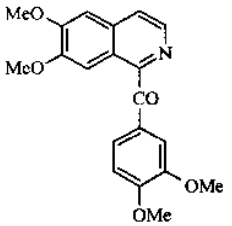
24



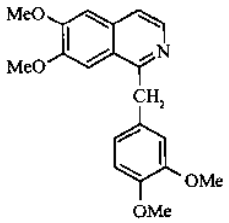
16



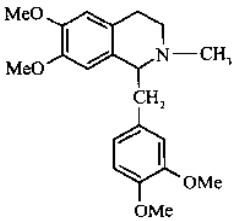
25



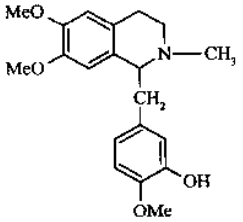
26



7



27



28

表 4-1 主要的阿片生物碱

中文名称	英文名称	分子式	熔点/℃	旋光度$[\alpha]_D$
吗啡	morphine (1)	$C_{17}H_{19}O_3N$	254	-131° (MeOH)
那可汀	narcotine (9)	$C_{22}H_{23}O_7N$	176	-200° ($CHCl_3$)
可待因	codeine (20)	$C_{18}H_{21}O_3N$	157	-137° (EtOH)
蒂巴因	thebaine (21)	$C_{19}H_{21}O_3N$	193	-219° (EtOH)
				-229° ($CHCl_3$)
东罂粟碱	oripavine (22)	$C_{18}H_{19}O_3N$	201	-212° ($CHCl_3$)
尼奥品	neopine(β-codeine)(23)	$C_{18}H_{21}O_3N$	127	-28° ($CHCl_3$)
罂粟碱	papaverine (7)	$C_{20}H_{21}O_4N$	148	0°
那碎因	narceine (24)	$C_{23}H_{27}O_8N$	145	0°
隐品碱	cryptopine(16)	$C_{21}H_{23}O_5N$	221	0°
罂粟壳碱	narcotoline (25)	$C_{21}H_{21}O_7N$	202	-189° ($CHCl_3$)
鸦片黄碱	papaveraldine (xanthaline) (26)	$C_{20}H_{19}O_5N$	210	0°
劳丹辛	laudabosine (27)	$C_{21}H_{27}O_4N$	89	+52° ($CHCl_3$)
				+100° (EtOH)
劳丹宁	laudanidine (tritopine) (28)	$C_{20}H_{25}O_4N$	184	-94° ($CHCl_3$)

1. 阿片生物碱的分离

阿片中各种生物碱的分离方法很多,这里仅举一个较简单的生产工艺流程图(图 4-1)为代表。它利用各生物碱与不同的酸所组成盐的溶解度不同而得到分离。

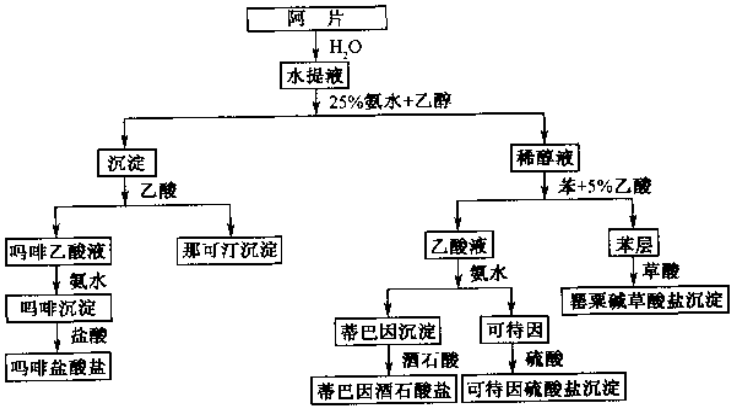


图 4-1 阿片生物碱分离的生产工艺流程图

2. 吗啡与可待因的性质与结构

吗啡 $C_{17}H_{19}O_3N$ (1),熔点 253~254℃,$[\alpha]_D$ -131°(MeOH),为酚性生物碱,不易溶于一般的有机溶剂,易溶于碱水。易成硫酸盐 $B_2\cdot H_2SO_4\cdot 5H_2O$(B 表示游离碱),熔点 250℃(分解),盐酸盐 $B\cdot HCl\cdot 3H_2O$,$[\alpha]_D$ -100°(H_2O),氢溴酸盐 $B\cdot HBr\cdot 2H_2O$ 及乙酸盐 $B\cdot CH_3COOH\cdot 3H_2O$,熔点 200℃(分解),$[\alpha]_D$ -77°(H_2O)等,均易溶于水。可待因(20),即甲基吗啡 $C_{18}H_{21}O_3N$,熔点 157℃,$[\alpha]_D$ -137°(EtOH),易溶于一般有机溶剂,它与吗啡的显著区别是易溶于苯及苯甲醚,难溶于碱水。硫酸盐 $B_2\cdot H_2SO_4\cdot 5H_2O$,熔点 278℃(分解),$[\alpha]_D$ +101°(H_2O);盐酸盐 $B\cdot HCl\cdot 2H_2O$,熔点 264℃(无结晶水),$[\alpha]_D$ -108°(H_2O);磷酸盐 $B\cdot H_3PO_4$ 带 1 个、1.5 或 2 个结晶水,熔点 235℃(分解)。

早在 1803 年,法国 Dersone 就曾在阿片的醇浸膏中加水得到沉淀,这就是人们最早得到的吗啡粗制品,它可能是吗啡与那可汀的混合粗品。以后,1806 年德国 Sertürner 第一次分得吗啡纯品,并称之为"植物的碱"[1]。直到 1847 年,Laurent 才正确地经元素分析方法确定了吗啡的分子式为 $C_{17}H_{19}O_3N$,并测出含两个羟基、一个氮甲基与一个醚键,展开式为 $C_{16}H_{14}(OH)(OH)(—O—)(NCH_3)$[2]。可待因是甲基吗啡,吗啡经

碘甲烷甲基化可得可待因，因此可待因的分子式为 $C_{18}H_{21}O_3N$，可展开为 $C_{16}H_{14}(OCH_3)(OH)(—O—)(NCH_3)$。以后又经过各国科学家先后近 80 年的努力，至 1925 年才基本确定了吗啡与可待因的结构。这不仅是其结构本身比较复杂，还因为在反应中产生许多异构体，给结构研究工作带来了困难。这些工作在参考书目[2]中均有综述。这里仅列出它的^{13}C-NMR(DMSO 为溶剂)数据供参考[3]。吗啡的^{13}C 波谱数据如表 4-2 所示。

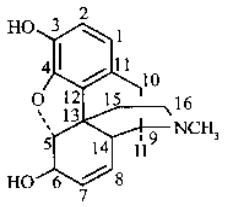


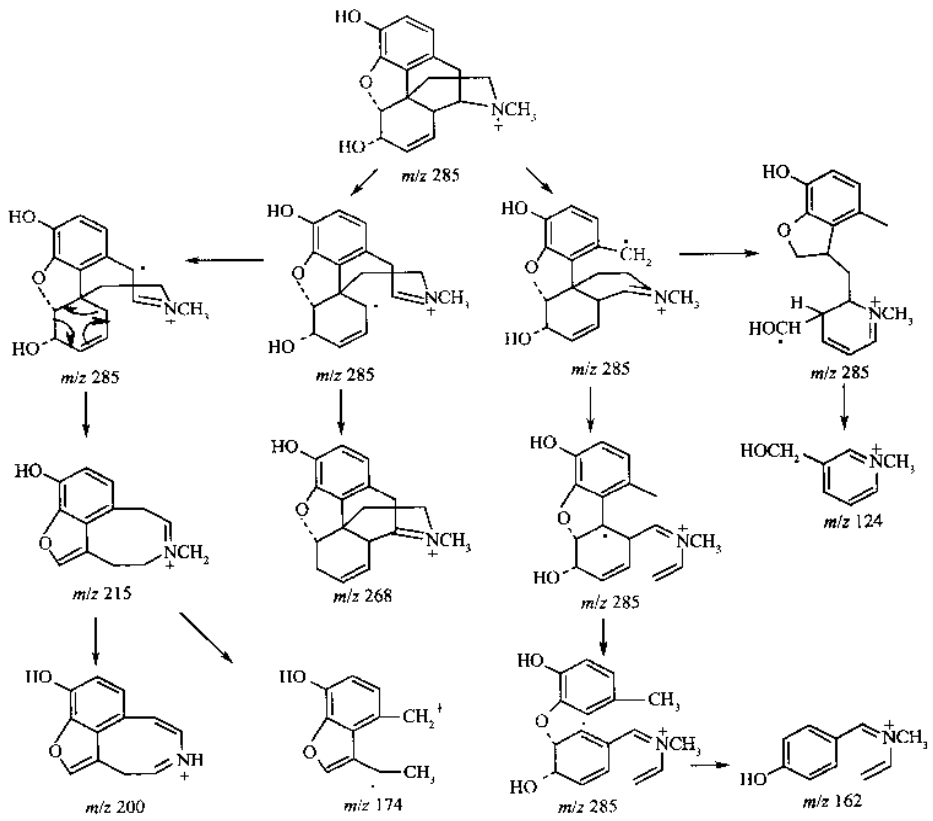
表 4-2 吗啡的^{13}C-NMR 波谱数据[3]

编号	^{13}C δ 值	编号	^{13}C δ 值
1	118.60	10	20.20
2	116.36	11	125.53
3	138.45	12	131.09
4	146.30	13	42.97
5	91.45	14	43.63
6	66.38	15	NA
7	133.43	16	46.05
8	128.50	N－CH_3	42.83
9	NA		

注：NA 表示未测得。

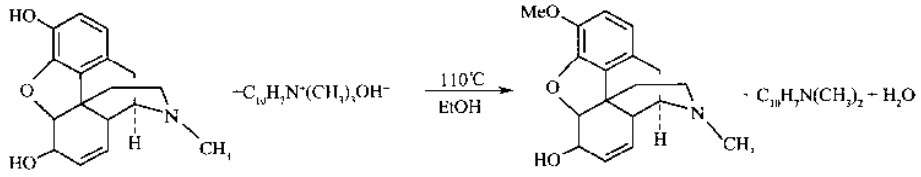
可待因的^{13}C-NMR($CDCl_3$)数据与吗啡基本相同，有区别的 δ 值 C-2 为 112.81、C-3 为 142.13、OCH_3 为 56.18。

吗啡的质谱碎片可按丙烯基离子或苄基离子两条路线断裂[4]：



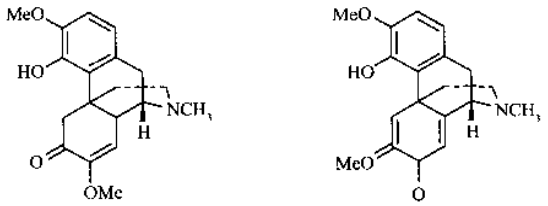
3. 吗啡的甲基化

吗啡甲基化即成可待因。甲基化方法很多，较重要的是 Радионов 的方法[5]，他发现吗啡用 α-或β-萘二甲胺的羟甲基季胺盐甲基化可提高可待因的产率，而且反应产物二甲萘胺用水蒸气蒸出回收后可再与对甲苯磺酸甲酯及碱作用得 α-或β-萘二甲胺的对甲苯磺酸季胺盐，因而可反复用于进行甲基化，此方法在原苏联一直用于吗啡转化为可待因的工业化生产。所得可待因溶于乙酸，用苛性钠碱化，有机溶剂苯等提取即得，得率在 80%以上。反应如下

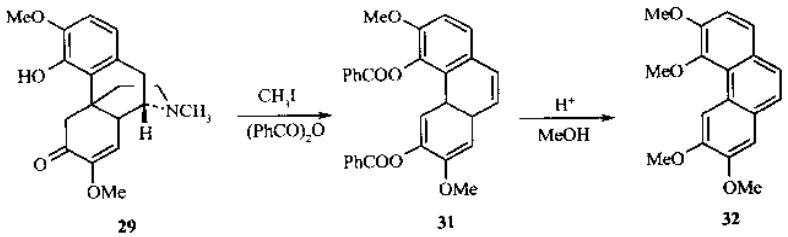


三、防己碱与清风藤碱

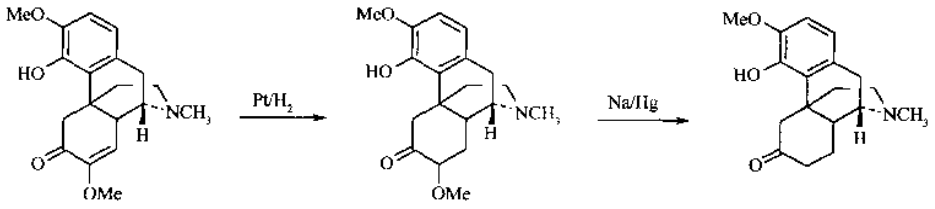
防己(*Sinomenium acutum* Rehder et Wilson)为防己科植物，有镇痛消炎作用。市售商品常称青风藤，它并非清风藤科(Sabiaceae)，但常以讹传讹沿用下来。它的根茎所含主要成分是防己碱(sinomenine，曾称青藤碱，**29**)与清风藤碱(sinoacutine，**30**)[6]。防己碱 $C_{19}H_{23}O_4N$，为酚性生物碱，熔点 161℃，$[\alpha]_D$ −70°(乙醇)，紫外光谱显示四氢异喹啉吸收 263(lgε 3.79)nm；红外光谱示苯酚 3575 cm^{-1}、1590 cm^{-1}、1296 cm^{-1}及 α，β-不饱和酮吸收 1700 cm^{-1}；^{1}H-NMR($CDCl_3$)显示—NCH_3 δ 2.34(3H, s)，—OCH_3 3.40(3H, s)，$ArOCH_3$ 3.70(3H, s)，AB 芳香质子 6.56，6.44(各 1H, d, J = 7 Hz)，烯质子 5.40(1H, s)及酮基邻位 CH_2 2.30，2.40(各 1H, d, J = 14)。



当防己碱与碘甲烷及苯甲酸酐加热，则与吗啡类化合物相似，失去含氮侧链，转成二苯甲酰基防己醇(dibenzoylsinomenol，**31**)，再进一步转成 3,4,6,7-四甲氧基菲(**32**)，后者经合成证明，表明它与吗啡具有相类似的骨架，再结合上述光谱、波谱数据析，不难得出它的化学结构。

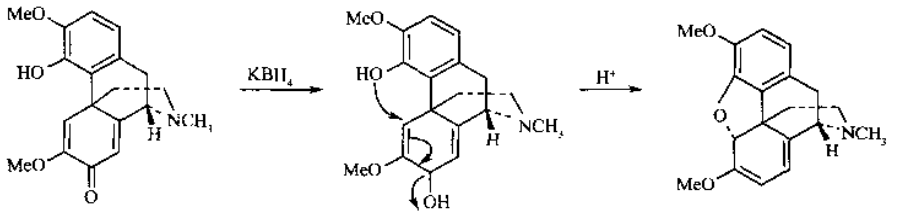


29 经催化氢化得二氢防己碱**33**，再钠汞齐还原得二氢蒂巴因酮的光学对映体**34**，因此防己碱的结构属吗啡类的光学异构体。



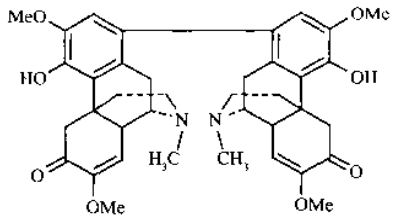
29 33 34

清风藤碱 $C_{19}H_{21}O_4N$，熔点 219℃，$[\alpha]_D$ − 81.6°（氯仿），比防己碱少两个氢，展开式为 $C_{15}H_{11}(OCH_3)_2(OH)(>CO)(NCH_3)$，紫外光谱吸收 242,281 (lgε 4.32, 3.82) nm，表明它比防己碱多一个双键，二者除同样具有四氢异喹啉基团外，另一对双键共轭体系与防己碱不同，红外光谱显示含酚羟基 3525 cm^{-1}、1296 cm^{-1}，不饱和羰基 1882 cm^{-1}，与共轭双键 1646 cm^{-1}、1626 cm^{-1}。它用 KBH_4 还原成醇**35**，这时紫外光谱吸收为 242 nm (lgε 4.32)，表明**30** 的两个双键都与羰基共轭，还原后失去这种共轭，紫外光谱显示四氢异喹啉的吸收峰，这种 α,β-α',β'-共轭酮的排列只能如**30** 式所示，但还不能确定甲氧基的位置。当**35** 经酸处理，去水而成(−)-蒂巴因 (*l*-thebaine)(**36**)，从而确定了清风藤碱中另一个甲氧基的位置[7]。



30 35 36

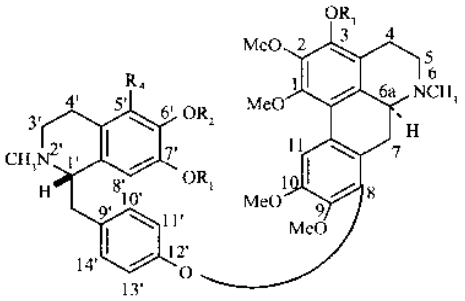
防己碱在空气中易氧化生成双防己碱，结构式如下：



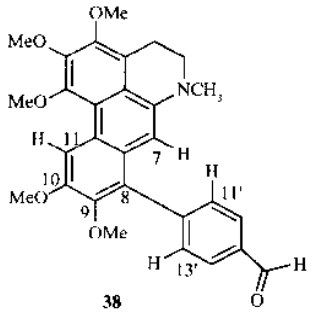
药理试验与临床试用表明，防己碱的盐酸盐具有镇痛作用，可用于治疗风湿痛。而清风藤碱则尚未见报道它的生物活性。

四、大叶唐松草碱

各种唐松草中含有许多阿扑芬-苄基异喹啉类双分子生物碱。大叶唐松草碱(thalifaberine,**37**)是从大叶唐松草(*Thalictrum faberi* Ulbr)中分出的生物碱，熔点 80～85℃，$C_{41}H_{48}O_8N_2$ (M^+ 696)，紫外光谱吸收 282,310 sh, nm(lgε 4.36, 3.98)，提示为阿扑芬-苄基异喹啉双分子生物碱，^{1}H-NMR 示有 AA′BB′(δ 6.75, 6.96, d, J = 8.5 Hz)两对质子。表明苄基异喹啉部分 C 环 12′位与阿扑芬碱相连。为确定此连结位置，运用 NOE 差谱加以解决。先将此生物碱于丙酮液中用 $KMnO_4$ 氧化成醛**38**，测定 NOE 差谱。当照射 H-7 时，H-11′显示增益，而甲氧基之一则未显示 NOE，表明醚键与阿扑芬的 C-8 位相联结，当照射 9-或 10-OCH_3 时，仅 11-H 显示 NOE，同样支持上述 C-8 联结位置的结论[8]。大叶唐松草类生物碱(**37**,**39**～**42**)的^{1}H-NMR 数据 δ 值如图 4-3 所示。



37



38

37 $R_1-R_2-R_4-CH_3$, R_4-H

39 $R_1=R_2=CH_3$, $R_3=CH_3$, $R_4=OCH_3$

40 $R_1=R_2=CH_3$, $R_3=R_4=H$

41 $R_1-R_2-R_3-CH_3$, $R_4=OH$

42 $R_1=R_2=CH_3$, $R_3=H$, $R_4=OH$

表 4-3 大叶唐松草类生物碱(37,39～42)的^{1}H-NMR 数据 δ 值

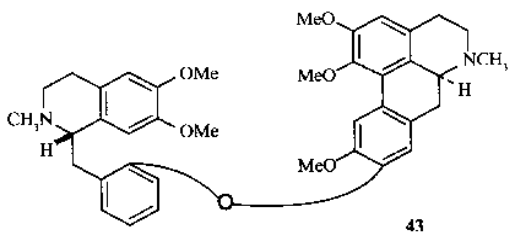
项目	thalifaberine **37**	thlifabine **39**	thalifarapine **40**	thalifabatine **41**	thalifasint **42**
N-6-Me	2.30	2.30	2.30	2.32	2.30
N-2′-Me	2.50	2.50	2.50	2.51	2.50
C-7′-Ome	3.54		3.55	3.53	3.55
C-1-Ome	3.78	3.78	3.78	3.79	3.77
C-9-Ome	3.78	3.78	3.87*	3.79	3.88*
C-6′-Ome	3.82		3.81*	3.82	3.83*
C-3-OMe	3.89	3.89		3.87	
C-2-OMe	3.95	3.95*	3.94	3.90*	3.95
C-10-OMe	3.92	3.92*	3.94	3.93*	3.95
H-8′	6.02	5.73	5.98	5.64	5.67
H-5′	6.53		6.51		
H-11′,13′	6.76 (d)	6.76 (d)	6.77 (d)	6.74 (d)	6.81 (d)
H-10′,14′	6.96 (d)	6.96 (d)	6.93 (d)	6.95 (d)	6.97 (d)
H-11	7.88	7.88	7.84	7.85	7.87

注:1. 每个生物碱带有"*"号的化学位移值可能互换。

2. 化合物**39** C-5-OCH_3 信号在 δ 3.64,次甲二氧基信号在 δ 5.95。

3. 表中每个化合物的 $J_{10,11}$和 $J_{13,14}$均约为 8.5Hz。

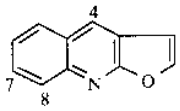
CD 常用以测定某些发色团附近手性碳的绝对构型,大叶唐松草碱的 CD 与厚果唐松草碱(thialicarpine,**43**)类同,$\Delta\varepsilon$(nm) −2.520(299.0),−3.173(278.4),29.93(241.6),其绝对构型也应相同,则苄基异喹啉环部分 C-1′应为 S 型[8]。



43

第六节 喹啉类生物碱

喹啉类生物碱的基核是喹啉环。最简单的如茵芋(*Skimmia reevesiana* Fort.)叶所含的茵芋碱(skimmianine,**44**),熔点 194℃,具有镇静止痛作用;白鲜(*Dictamnus dasycarpus* Turcz.)根所含的白鲜碱(dictamnine,**45**),熔点 133℃,它们是呋喃喹啉衍生物。



44 4=7=8-OCH_3

45 4-OCH_3, 7=8-H

其他如奎宁(quinine)、喜树碱(camptothecine)均属喹啉类生物碱。喹啉环的紫外光谱吸收为 230(37 000)nm、270(3600)nm、314(2750)nm,红外光谱吸收与一般的苯核吸收相似(1400~1600 cm^{-1})。

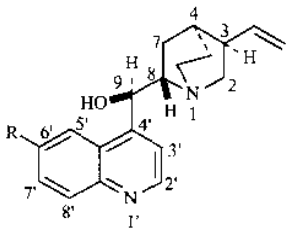
一、金鸡纳生物碱

金鸡纳是茜草科各种 *Cinchona* 属木本植物的总称。最初在南美被发现可用以治疗疟疾而受到重视,以后发现它的有效成分是奎宁(**46**),同时又发现同科 *Remijia* 与 *Cuprea* 两属植物也含奎宁,有的含量高达 3%,因而这三属植物被广泛引种于南美及东南亚各国地区。

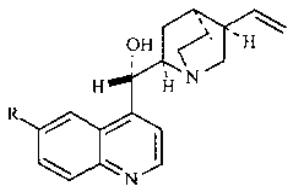
奎宁是继吗啡后研究得最早的生物碱之一,早在 1792 年 Fourcroy 即曾分得粗品。以后西班牙医生 Gomes 于 1810 年将苛性钾加入金鸡纳树皮的乙醇溶液中,第一次分得结晶性物质,称之为"cinchonino"。1820 年,法国化学家 Pelletier 与 Caventou 从 *Cinchona condaminea* 树皮中分得 cinchonino,它经进一步分离纯化,分得奎宁(**46**)和辛可宁(**51**)两个纯品[9],从此许多化学家对各种金鸡纳 *Cinchona* 与 *Remijia*、*Cuprea* 植物中的生物碱进行了系统的研究,从中先后分得 30 多个生物碱,大多为奎宁类衍生物,其中主要的见表 4-4。

表 4-4 主要的金鸡纳生物碱[10,11]

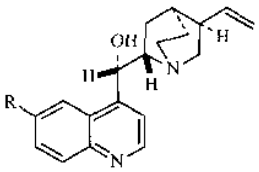
名称		分子式	熔点/℃	旋光度$[\alpha]_D$
奎宁	quinine (**46**)	$C_{20}H_{24}O_2N_2$	175	-158°(EtOH)
奎尼定	quinidine(**47**) conchunine β-quinine	$C_{20}H_{24}O_2N_2$	173.0	+255°(EtOH)
表奎宁	epiquinine (**48**)	$C_{20}H_{24}O_2N_2$	油状	+43°
表奎尼定	epiquinidine (**49**)	$C_{20}H_{24}O_2N_2$	113	+102°(EtOH)
奎宁毒	quinicine (quinotoxine, **50**)	$C_{20}H_{24}O_2N_2$	黏稠液	+39°($CHCl_3$)
辛可宁	cinchonine (**51**)	$C_{19}H_{22}ON_2$	264	+224°(EtOH)
表辛可宁	epicinchonine (**52**)	$C_{19}H_{22}ON_2$	83	+120.3°(EtOH)
辛可尼定	cinchonidine (**53**)	$C_{19}H_{22}ON_2$	205	-110°(EtOH)
表辛可尼定	epicinchonidine (**54**)	$C_{19}H_{22}ON_2$	104	+62.8°(EtOH)
二氢辛可宁	dihydrocinchonine(**55**) cinchotine ϕ-cinchonine cinchonifine	$C_{19}H_{24}ON_2$	267	+150.5°(EtOH)
二氢辛可尼定	hydrocinchonidine (cinchamidine, **56**)	$C_{19}H_{24}ON_2$	232	-95.8°(EtOH)
二氢奎宁	hydroquinine (hydrochinine, **57**)	$C_{20}H_{26}O_2N_2\,2H_2O$	173	-142°(EtOH)
二氢奎尼定	hydroquinidine (hydrochinidine, **58**)	$C_{20}H_{26}O_2N_2\,2.5H_2O$	190	+237°(EtOH)



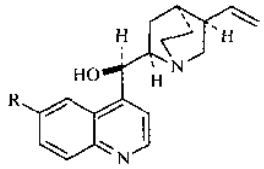
46 奎宁 R=OCH_3
53 辛可尼定 R=H



47 奎尼定 R=OCH_3
51 辛可宁 R=H



48 表奎宁 R=OCH_3
54 表辛可尼定 R=H



49 表奎尼定 R=OCH_3
52 表辛可宁 R=H

由上列结构可以看出，辛可尼定与奎宁的结构基本一致，只是6′取代位置不同，奎宁是6′-甲氧基辛可尼定。同样，辛可宁与奎尼定的区别在于奎尼定是6′-甲氧基辛可宁。奎宁与表奎尼定是一对C-8差向异构体。四个表生物碱类则是四个相应生物碱的C-9差向异构体等。这类生物碱都由两类杂环，即喹啉环(quinoline)和奎宁环(quinuclidine)通过醇碳C-9组成。喹啉环的叔氮是弱碱，而奎宁环的叔氮则是强碱，因而这类生物碱都能制成双酸盐。

奎宁是金鸡纳树皮的主要成分，含量高达3%(总碱含量高达6%)，是治疗疟疾的有效成分。从金鸡纳树皮中提出的奎宁通常制成硫酸盐，含7个结晶水 $B\cdot H_2SO_4\cdot 7H_2O$ $[\alpha]_D-216.5°$(H_2O，B表示游离碱)，这是酸性盐，如用奎宁与稀硫酸中和则可得中性盐 $B_2\cdot H_2SO_4\cdot 8H_2O$(或 $7H_2O$)，它在空气中(或用硫酸)干燥后易失去水分成稳定的含两个结晶水的中性盐 $B_2\cdot H_2SO_4\cdot 2H_2O$，熔点205℃。酸性盐易溶于水与乙醇，而中性盐则不易溶于水，较易溶于醇，很容易于50℃溶于氯仿与乙醇的混合液(2∶1)中，奎宁的盐酸盐常含2个结晶水 $B\cdot HCl\cdot 2H_2O$，干燥后熔点158～160℃，$[\alpha]_D-133.7°$(H_2O)，较易溶于水(1∶18)，易溶于乙醇(1∶0.6)和氯仿(1∶0.8)，即几乎等溶积。酸性盐酸盐 $B\cdot 2HCl$，可将酸性硫酸盐用氯化钡处理而得，它易溶于水(1∶0.75)。奎宁的氢溴酸盐 $B\cdot HBr\cdot H_2O$，熔距很长，152～200℃，能溶于水(1∶55)，易溶于乙醇(1∶0.67)，不易溶于氯仿与乙醚，其酸性氢溴酸盐用水重结晶则含三个结晶水：$B\cdot 2HBr\cdot 3H_2O$，$[\alpha]_D-189.6°$(H_2O)。奎宁的草酸盐为 $2[B\cdot C_6H_4(OH)(COOH)]\cdot H_2O$，熔点187℃，可溶于水(1∶77)、乙醇(1∶11)和氯仿(1∶37)。

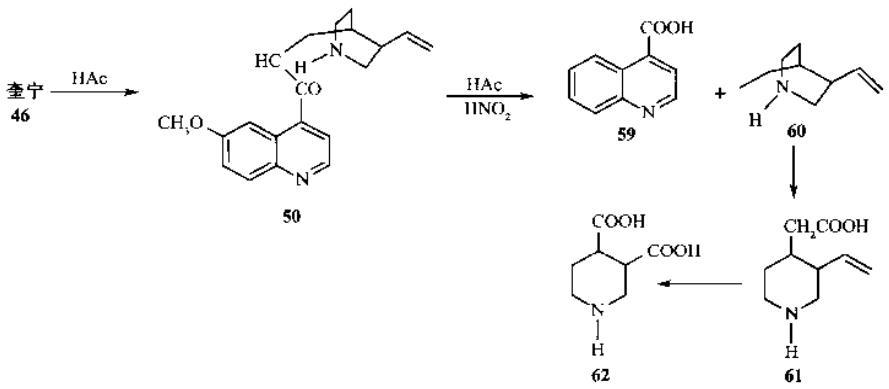
1. 化学结构

为阐明奎宁(**46**)的结构，许多化学家曾做了大量工作，其中最解决问题的降解反应是在乙酸中加热则C-9的羟基氧化成酮，同时，奎宁环开环成奎宁毒(quinoioxine，**50**)，该产物进一步在乙酸与亚硝酸中裂解成奎宁酸(**59**)与化合物(**60**)，后者又先后氧化成部奎宁(meroquinene，**61**)与哌啶3，4-二羧酸(**62**)，从而推定了奎宁的平面结构[12, 13]。

2. 辛可宁与奎宁的立体化学

从上述结构可以看出，辛可尼定与奎宁有四个手性中心C-3、C-4、C-8和C-9，因此存在16个异构体，或8对镜像对映体，每一对对映体自然还产生一个消旋体。虽然辛可宁是右旋化合物，而辛可尼定是左旋化合物，但它们的旋光值差异很大，性质也有区别。因此，它们不是一对镜像对映体，而是一对差向异构体。

从金鸡纳树皮中分到的生物碱辛可宁与辛可尼定具有相同C-3、C-4与C-9的构型，但C-8构型不同，辛可尼定(cinchonidine)与表辛可尼定(epicinchonidine)则是C-3、C-4与C-8相同，而C-9不同。与此相对应的则是另两对生物碱奎宁和奎尼定及表奎宁和表奎尼定。这类C-9表生物碱也可由相应的生物碱用下列化学



方法转化：用盐酸煮沸，以邻甲苯磺酸盐与含水酒石酸处理，或用卤化磷处理，都可使辛可宁、辛可尼定、奎宁、奎尼定转成相应的表辛可宁、表辛可尼定、表奎宁、表奎尼定，即相应的 C-9 差向异构体。

进一步解决 C-9 的构型，鉴于这类表生物碱能形成铜螯合衍生物，据此，Prelog 认为辛可宁和辛可尼定及奎尼定和奎宁是赤式(erythro)，与(+)及(−)麻黄碱相对应，而表辛可宁和表辛可尼定及表奎宁和表奎尼定是苏式(threo)，与一对假麻黄碱(pseudoephedrine)相对应，由此 C-8、C-9 的相对构型如表 4-5 所示[14, 15]。

表 4-5 奎宁类主要生物碱的相对构型

名 称	构 型	
	C-8	C-9
辛可宁、奎尼定	*R*	*S*
表辛可宁、表奎尼定	*R*	*R*
辛可尼定、奎宁	*S*	*R*
表辛可尼定、表奎宁	*S*	*S*

综上所述，8 种天然的奎宁类生物碱构型如前列**45**、**47～49**、**51～54** 所示。

3. 奎宁类生物碱的旋光性与^{13}C-NMR 数据

上述天然界 8 种生物碱中 4 种主要生物碱的旋光度都很大，是它们四个手性中心旋光度的总和，奎宁和辛可尼定是左旋的(相应为 −158°与 −111°)，奎尼定和辛可宁是右旋的(分别为 +254°与 +224°)，辛可毒和奎宁毒(它们 C-8、C-9 手性中心已消失，仅有 C-3、C-4 两个手性碳)都是右旋的(约 +40°)，因此，C-3、C-4 的总旋光度很弱，是右旋。由此计算，C-8 和 C-9，两个手性中心旋光度的总和对左旋生物碱约为 −200°和 −150°，而对右旋生物碱相应的应约为 +210°与 +180°[16]。奎宁类生物碱的旋光值如表 4-6 所示。

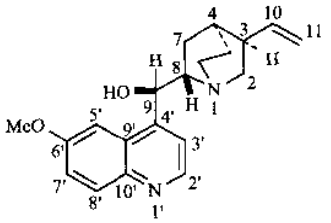
表 4-6 奎宁类生物碱的旋光值

名称	$[\alpha]_D$(EtOH，大致数)	C-8 构型	C-9 构型
辛可宁	+230°	+	+
脱氧辛可宁	+180°	+	0
表辛可宁	+120°	+	−
辛可毒	+50°	0	0
辛可尼定	−110°	−	−
脱氧辛可尼定	−30°	−	0
表辛可尼定	+63°	−	+

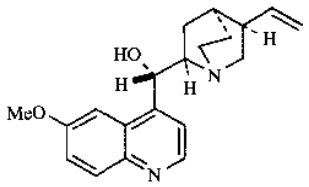
奎宁和奎尼定的^{13}C信号如**45**和**47**,同一文献也报道了同类其他生物碱的^{13}C-NMR数据[17](表4-7)。

表4-7 奎宁与奎尼定的^{13}C-NMR数据

碳	45	47	碳	45	47
2	56.9	49.9	CH_3O	55.4	55.3
3	39.8	40.0	2′	147.0	147.1
4	27.7	28.1	3′	121.1	121.1
5	27.5	26.2	4′	148.3	148.2
6	43.0	49.4	5′	101.4	101.3
7	21.4	20.8	6′	157.4	157.3
8	59.9	59.6	7′	118.3	118.3
9	71.5	71.5	8′	130.9	130.9
10	141.6	140.5	9′	126.4	126.3
11	114.1	114.2	10′	143.7	143.6



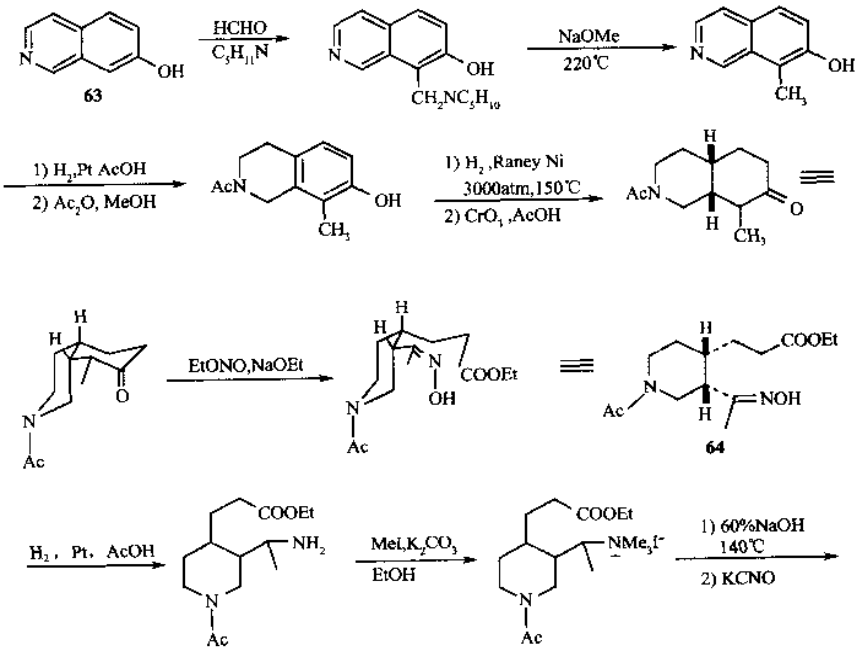
45

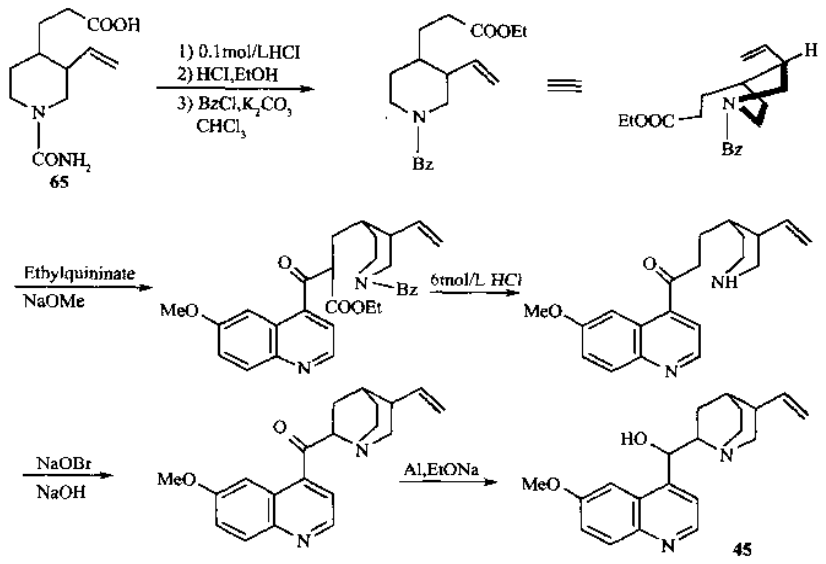


47

4. 奎宁的全合成

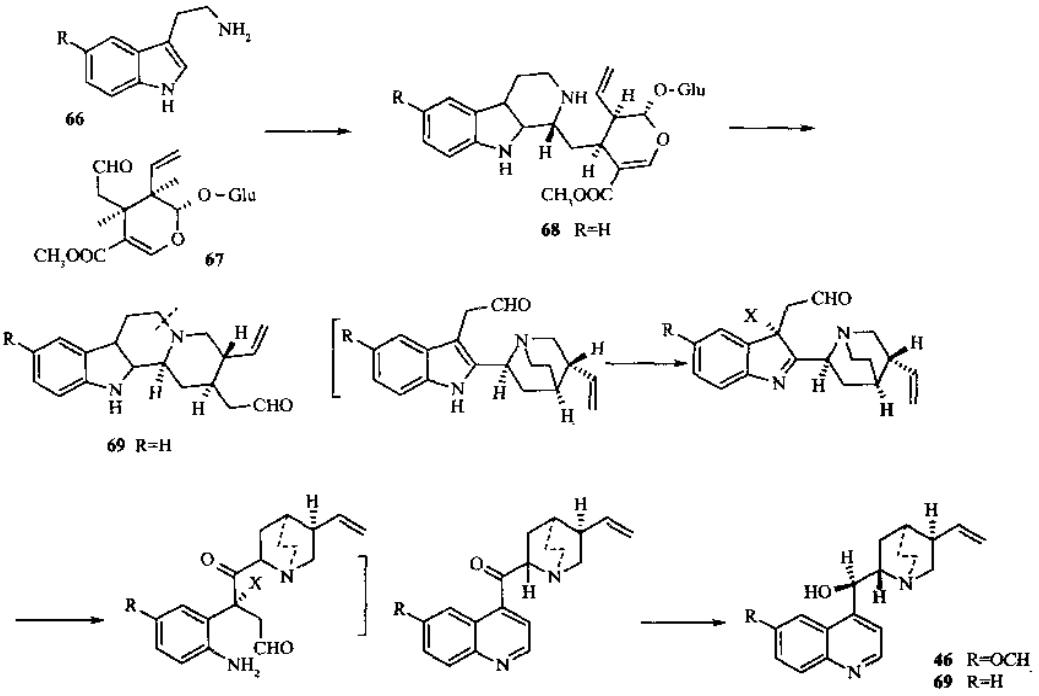
Woodward等从羟基异喹啉(**63**)开始,合成哌啶烷3,4-顺式取代化合物(**64**),再经霍夫曼降解反应连上乙烯基,得**65**。最后经五步反应生成立体专一性奎宁(**45**)[18,19]。反应如下





5. 奎宁的生物合成

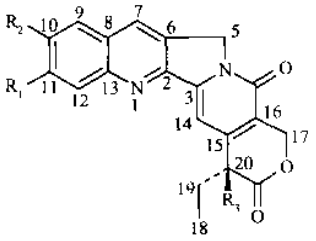
已经证明由色胺(**66**)与 secologanin (**67**)先合成吲哚生物碱 vincoside (**68**)、corynantheal (**69**),再转化成奎宁,因此奎宁与 vincoside 类吲哚生物碱在生源上有着密切关系[20]。反应如下



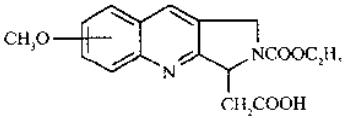
二、喜树碱及其类似物

喜树碱是从我国特有植物珙桐科喜树(*Camptotheca acuminata* Decne.)中发现的有抗癌活性成分。1966 年,Wall 等首先报道从喜树干中分得喜树碱 $C_{20}H_{16}N_2O_4$ (**70**),熔点 264～266℃,$[\alpha]_D$ + 40°($CHCl_3$:MeOH 4:1),并通过其碘乙酰衍生物的 X 射线衍射方法解决了它的结构,唯一的手性 C-20 为 S 型。由于动物实验有较强的抗癌活性而被认为是有希望的抗癌药物。我们于 1969 年开始从国产喜树中分得喜树碱,以

后又进一步分得 10-羟基喜树碱 $C_{20}H_{16}N_2O_5 \cdot H_2O$ (**71**)，熔点 266～267℃，$[\alpha]_D$ −147°(吡啶)，并首先投入生产，用于临床[21]。喜树碱在临床上用于治疗胃癌、膀胱癌、白血病等。但因有血尿、尿急尿频等不良反应而受到限制。10-羟基喜树碱则可用于治疗肝癌与头颈部肿瘤，不良反应远比喜树碱为小。近年来又发现喜树碱用黄曲霉菌 T-37 可选择性地氧化成 10-羟基喜树碱，为大规模生产打下了基础[22]。



70 $R_1 = R_2 = H, R_3 = OH$
71 $R_1 = H, R_2 = OH, R_3 = OH$
72 $R_1 = H, R_2 = OMe, R_3 = OH$
73 $R_1 = OH, R_2 = H, R_3 = OH$
74 $R_1 = OMe, R_2 = H, R_3 = OH$



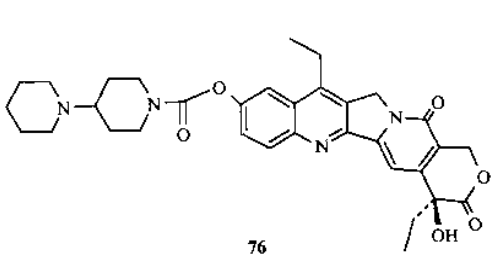
75

喜树碱在喜树枝、皮、根、根皮及果中的得率分别约为万分之 0.4、1、1、2 及 3，由于喜树果资源丰富，含喜树碱及 10-羟基喜树碱(0.03 ‰)，因此被选作生产原料，同时从喜树果中还分得微量 10-甲氧基喜树碱(**72**)、11-羟基喜树碱(**72**)与 11-甲氧基喜树碱(**74**)，它们的结构是通过与甲氧基吡咯[3, 4-b]喹啉类似物(**75**)的 ^{1}H-NMR 比较而解决的，它们对动物肿瘤都有强的抑制作用。

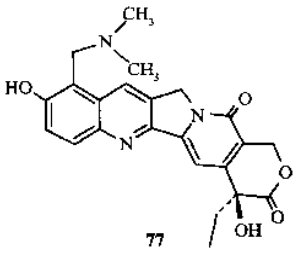
喜树碱类生物碱是一类特殊的生物碱，带有喹啉环，含 δ-内酰胺与 δ-内酯环，它们都属于中性乃至近酸性的化合物，无一般生物碱反应(与碘化铋钾试剂反应呈阴性)，也不能与酸成盐，不溶于一般有机溶剂与水，能溶于稀碱而开内酯环。与一般生物碱不同，可从乙醇提取液浓缩后的浓水液中用氯仿直接提取。

鉴于喜树碱的喹啉环与不饱和内酰环之间有连续的共轭系统，因此它为淡黄色结晶，其氯仿溶液有很强的荧光。紫外吸收为 218(lgε 4.63)，254 (4.53)nm，290(3.78)nm，370(4.35)nm，红外光谱有羟基(3440 cm^{-1})、内酯(1760～1750 cm^{-1})及不饱和内酰胺(1673 cm^{-1})等吸收峰。以三氟乙酸为溶剂的^{1}H-NMR 信号有 δ 0.69(3 H, t, J = 7 Hz, C_{18}-H)、1.72(2 H, q, J = 7 Hz, C_{19}-H)、5.40(2 H, s, C_5-H)、5.18,5.54 (2 H, q, J = 16 Hz, C_{17}-H)、7.66～8.14(5 H, m, $C_{9\text{-}12}$及 C_{14}-H)、9.00(1 H, s, C_7-H)。

近年来，由于发现喜树碱是 DNA 拓扑异构酶Ⅰ(topoisomerase Ⅰ)的抑制剂，而不同于大多数为拓扑异构酶Ⅱ抑制剂的抗癌药，因而格外受到重视，同时发展了以增加溶解度为主的类似物合成，其中 Irinotecan (**76**)、Topotecan (**77**)已于 1996 年获得美国 FDA 批准上市，用于治疗小细胞肺癌、结肠癌等恶性肿瘤。它们的制备方法见第二十章“天然产物的结构修饰”。



76



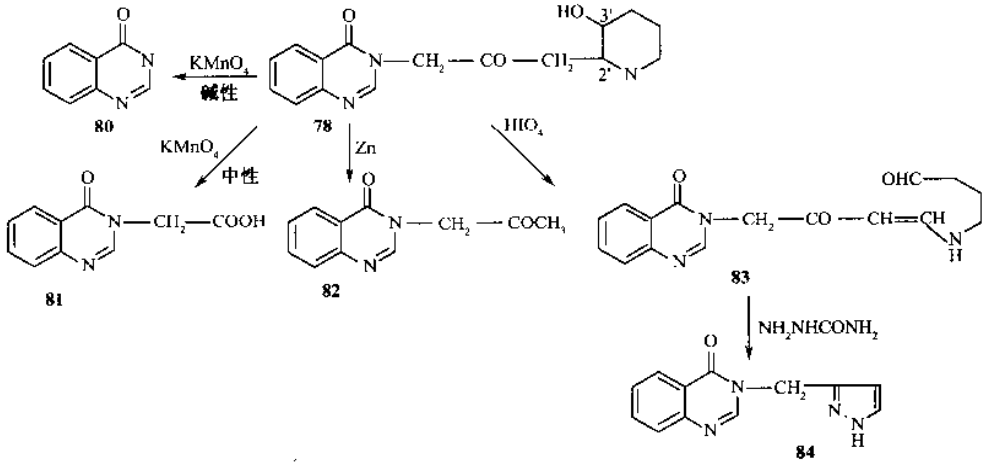
77

第七节 喹唑类生物碱

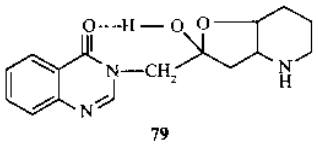
常山(*Dichroa febrifuga* Lour.)是常用中药之一，药用其根，有治疗疟疾的功效。张昌绍、赵承嘏等首先

从常山根中分出抗疟活性成分常山碱(或称 β-常山碱,β-dichroine,**78**)与异常山碱(或称 α-常山碱,α-dichroine,**79**)[21]。它们的分子式相同,为 $C_{16}H_{19}O_3N_3$。常山碱有两种晶体,一种自乙醇中结晶,熔点 140℃;另一种自氯仿中结晶,熔点 156℃,$[\alpha]_D$ +28°(EtOH),难溶于氯仿、乙醇。异常山碱熔点 132℃,$[\alpha]_D$ +31°(EtOH),在氯仿中溶解度较大。它们可以互相转换,常山碱在氯仿中加热可转为异常山碱,后者在乙醇中加热则又转为常山碱。常山碱的抗疟作用为奎宁 100 倍以上,异常山碱的抗疟作用与奎宁相当,但都由于呕吐等毒性而未能推广应用[23, 24]。

常山碱(febrifugine)和异常山碱(isofebrifugine)都是喹唑酮的衍生物,其紫外吸收为 225 nm、266 nm、275 nm、302 nm,常山碱能与羟胺作用形成肟,也能形成 *N*-亚硝基衍生物,因此应含羰基(IR 1727 cm^{-1})及亚氨基,并含一个羟基,易于乙酰化。当用 $KMnO_4$ 在碱性溶液中氧化,则得 4-喹唑酮(4-quinazolone,**80**),而在中性溶液中氧化则得到 4-喹唑酮-3-乙酸(4-quinazolone-3-acetic acid,**81**)。常山碱经锌粉蒸馏得 3-(β-丙酮)-喹唑酮-4-[3-(β-ketopropyl)-quinazolone-4](**82**),如用过碘酸氧化常山碱或异常山碱则得无旋光性化合物 $C_{16}H_{17}O_3N_3$ (**83**),后者与氨基脲加热即得 3-[吡唑基-(3)-甲基-喹唑酮-4](**84**),于是推测常山碱结构为 **78**[25]。该结构为全合成证明,并推定了该无光学活性化合物的结构如**83** 所示。

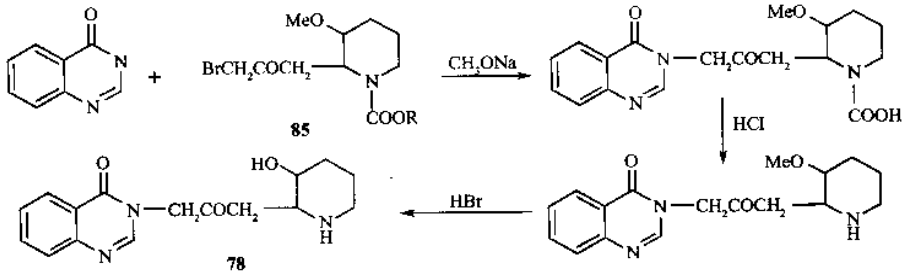


异常山碱是常山碱的异构体,但其红外光谱无羰基吸收,推测是形成了半缩酮。此外,它的喹唑羰基又由于与半缩酮的羟基形成了分子内氢键,因而异常山碱很稳定。异常山碱的结构如**79** 所示[26]。



79

常山碱的合成:最简单的合成方法是将喹唑酮-4-(3)与 *N*-羰基化合物(**85**)缩合成化合物,后者经水解脱羧得常山碱甲醚,再用 HBr 脱甲基即成常山碱[27]。



邓永红等在研究常山生物碱时发现常山叶中生物碱含量比常山根中高 5 倍以上,同时证明,以前报道的

常山碱丙(γ-dichroine,熔点 160℃)即常山碱,是常山碱两个不同熔点导致不同命名。此外,还从常山碱叶中分得 4-喹唑酮,2-(δ-羟基丁基)喹唑酮以及新生物碱常山新碱(neodichroine),常山新碱 $C_{17}H_{19}N_3O_3$,熔点 212℃,$[\alpha]_D$ 219.8°(MeOH),经光谱解析结构如**86** 所示,绝对构型为 βS, 2′S, 3′R。同时异常山碱与甲醛经曼尼希(Mannich)反应合成得到证明[28]。常山新碱的^{1}H-NMR 和^{13}C-NMR 数据如表 4-8 所示。

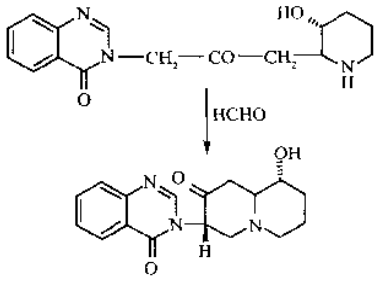
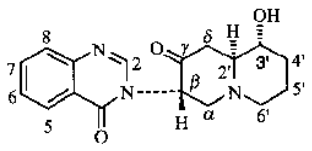


表 4-8 常山新碱的^{1}H-NMR 和^{13}C-NMR 数据

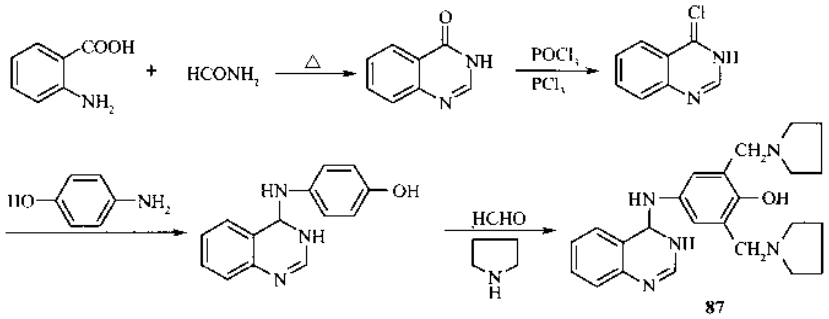
编号	^{1}H-NMR[1)]		^{13}C-NMR[2)]	
2	8.60	s		146.8 d
4				160.8 s
5	8.45	dd	7.8, 1.2	127.3 d
6	7.40	t	7.8	127.3 d
7	7.70	dddd	7.8, 7.8, 1.2	134.5 d
8	7.85	d	7.8	128.1 d
α	3.30	dd	11.3, 6.5	59.2 t
	3.05	t	11.3	
β	6.15	dd	11.3, 6.5	68.3 d
γ				202.5 s
δ	3.55	dd	15.1, 3.2	44.8 t
	2.75	dd	15.1, 10.1	
2′	2.45	ddd	10.1, 10.1, 3.2	60.5 d
3′	3.65	br s		73.0 d
4′	2.15	br d	12.1, 3.2	33.8 t
	1.45	m		
5′	1.70	m		24.0 t
6′	2.10	ddd	11.6, 11.6, 3.0	54.9 t
	2.85	d	11.6	
OH	6.55	br s		

1) 400MHz, 在 C_5D_5N 中, 2) 25MHz, 在 C_5D_5N 中。



86

李良泉等[29]在研究常山碱结构改造工作时认为,常山碱的抗疟作用主要由于分子中的羰基和六氢吡啶环上的羟基容易与疟原虫内微量金属形成螯合物,因而合成了一系列具有螯合作用的类似物,其中 4-{3′-5′-双[(*N*-吡咯烷基)甲基]4′-羟苯胺基}喹唑啉(**87**)即常咯啉(changrolin),熔点 191～193℃,对鸡疟有效,在临床实验中观察到心律失常的疟疾病人,其心脏异位搏动次数明显减少,因而发现它对心律失常病人有很好的防治作用,该药已正式投产并应用于临床[29]。常咯啉的合成方法如下(收率 37%):



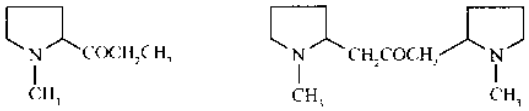
87

第八节 吡咯烷类生物碱

一、分 类

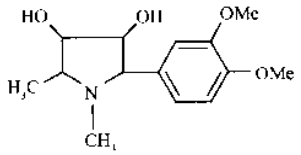
1. 最简单的吡咯烷生物碱

最简单的吡咯烷生物碱，如古豆碱(hygrine，**88**)，沸点 195℃，$[\alpha]_D$ 0°，与另一种红古豆碱(cuscohygrine，**89**)，沸点 169～170℃，$[\alpha]_D$ 0°，都是从古柯科植物古柯(*Erythroxylon coca* Lam.)叶中分出的液体生物碱。



88 89

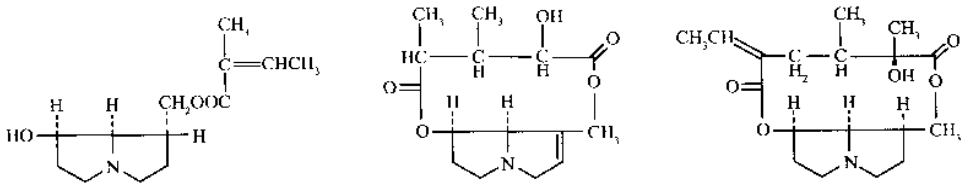
新疆党参[*Codonopsis clematidea* (Schrenk) Clarke]中的党参碱(codonopsine，**90**)，熔点 150℃，$[\alpha]_D$ −16°(MeOH)。



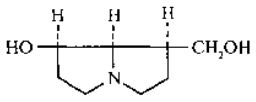
90

2. 双稠吡咯烷(pyrrolizidine)类生物碱

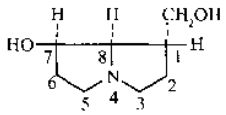
由叔氮稠合两个吡咯烷而成，如大叶千里光碱(macrophylline，**91**)，分子式 $C_{13}H_{21}O_3N$，熔点为 44℃，$[\alpha]_D$ +35°(EtOH)。从农吉利(*Crotalaria sessilflora* L.)中分出的野百合碱(又称农吉利碱，monocrotaline，**92**)，$C_{16}H_{23}O_6N$，熔点 219℃，$[\alpha]_D$ −55°($CHCl_3$)及从阔叶千里光(*Senecio platyphyllus* D. G)中分得的阔叶千里光碱(platyphylline，**93**)，$C_{18}H_{27}O_5N$，熔点 129℃，$[\alpha]_D$ −56°($CHCl_3$)，都是由一个有机酸与双稠吡咯啶衍生的氨醇以酯的形式连接而成。除少数如(**91**)为单酯外，大多为双酯，如**92**、**93** 等。大多数氨醇部分为阔叶千里光次碱(platynecine，**94**)，也有大叶千里光次碱(macronecine，**95**)，它们是 C-1 差向异构体。



91 92 93



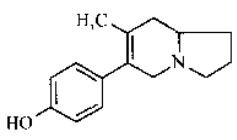
94



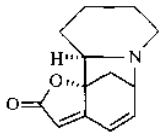
95

3. 吲哚里西定(indolizidine)类生物碱

以叔氮稠合吡咯烷与哌啶环而组成的吲哚里西定环，如白牵牛碱(ipalbidine，**96**)、一叶萩碱(securinine，**97**)等。



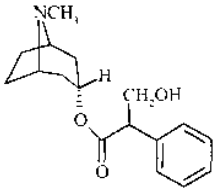
96



97

4. 莨菪烷(tropane)类生物碱

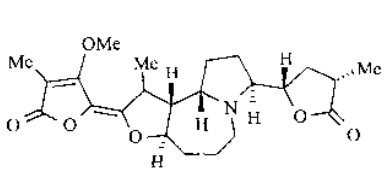
莨菪烷是由吡咯烷与哌啶(piperidine)骈合而成的杂环，这类生物碱中常见的是与有机酸组成酯的阿托品(atropine，**98**)类生物碱。



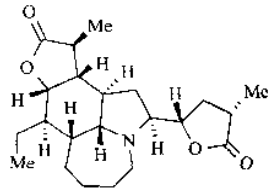
98

5. 百部生物碱

百部生物碱由各种百部根中分得的生物碱大多含有吡咯烷环，因此也纳入吡咯烷类生物碱，如原百部碱(protostemonine，**99**)和对叶百部碱(tuberostemonine，**100**)。



99

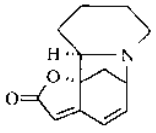


100

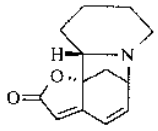
二、吲哚里西定(indolizidine)类生物碱

1. 一叶萩碱

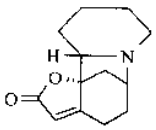
一叶萩碱(**97**)是从大戟科一叶萩[*Securinega suffruticosa* (Pall.) Rehd.]的叶与根中分离出的生物碱，是胆碱能抑制剂，有兴奋中枢神经作用，临床用以治疗急性脊髓灰白质炎及某些植物神经系统紊乱所引起的头晕等病症。从同一种植物中尚分离出别一叶萩碱(allo-securinine，**101**)，熔点 60℃、二氢一叶萩碱(**102**)、一叶萩醇碱 A(**103**)，熔点 136℃，$[\alpha]_D$ 58.2°、一叶萩醇碱 B(**104**)，熔点 160℃及一叶萩醇碱 C(**105**)等类似物与异构体。



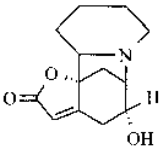
97



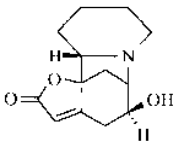
101



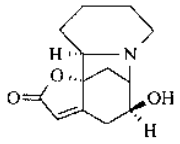
102



103



104



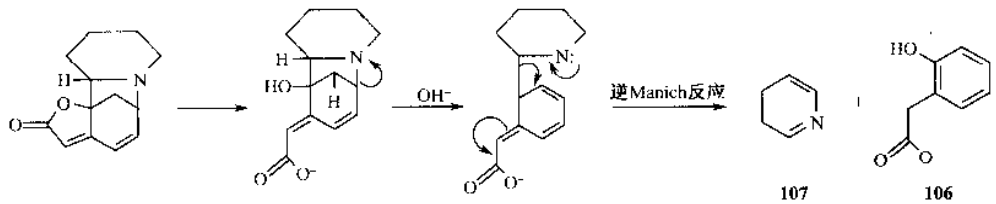
105

--叶萩碱为淡黄色结晶，熔点 142～144℃，$[\alpha]_D$ -110°($CHCl_3$)，但--叶萩碱的盐为无色结晶，表明游离碱中氮上孤对电子与环内双键产生跨环效应。成盐后孤对电子为酸饱和，跨环效应消失，因而成无色。一叶萩碱的分子式 $C_{13}H_{15}O_2N$，氢化时吸收两分子氢，表明存在两对双键，紫外光谱吸收 255 nm(lgε 4.2)，红外光谱吸收 1730 cm $^{-1}$，二氢化合物红外吸收 1755 cm^{-1}，四氢化合物的红外吸收 1765 cm^{-1}，表明分子中有一个 $\alpha,\beta,\gamma,\delta$ 不饱和五元内酯环，根据分子式的不饱和数 7，推测它应是一个四环化合物，由于红外光谱无 NH 吸收，^{1}H-NMR 也无 N—CH_3、C—CH_3 信号，推测 N 应是介于双环间的叔氮。一叶萩碱总共仅 13 个碳，叔氮不可能在两个六元环之间；又由于一叶萩碱在浓盐酸中稳定所以也不可能由三元或四元的小环组成。当用 $KMnO_4$ 氧化所成内酰胺的红外吸收 1870 cm $^{-1}$，表明为六元环四氢吡啶酮，则叔氮也不可能在两个五元环之间，因此叔氮最大可能应在五元环与六元环之间，组成吲哚里西啶环。一叶萩碱的^{1}H-NMR 谱中有两个烯质子信号，δ 4.5(1H, s)，6.5(2H, m)，4～6 之间没有其他信号，因此与内酯环氧相连的碳可能为季碳，并组成下列两个部分结构式之一：



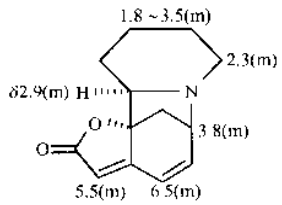
a 或 b

一叶萩碱是一个弱碱，pH 为 6～8，所以 **b** 可能性不大。前者与吲哚里西定环组成的一叶萩碱结构如 **97** 所示。这一结构曾为下列化学反应证实：用甲醇钠与 220℃ 裂解或与异戊醇氢氧化钾裂解或先 $LiAlH_4$ 还原，再碱裂解，都得到邻羟基苯乙酸 **106** 及四氢吡啶**107**，一叶萩碱经霍夫曼降解得邻羟基苯乙酸及二氢-*N*-甲基吡啶[30,31]：



107 106

^{1}H-NMR 的解析符合上述结构：



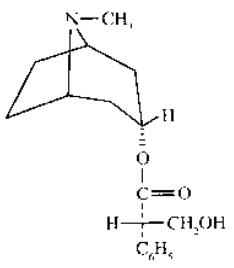
三、莨菪烷类衍生物

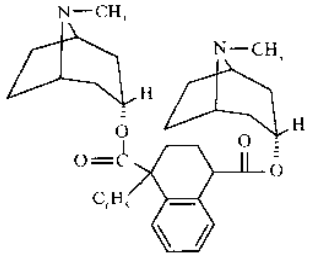
莨菪烷类(tropane)衍生物因阿托品(atropine,**98**)、莨菪碱(hyoscyamine,**108**)、东莨菪碱(scopolamine,**112**)等有重要药用价值而受到重视,除上述三种生物碱外,常见的尚有颠茄碱(belladonine,**109**)等几种(见表4-9)[32]。20世纪70年代我国又发现了樟柳碱(anisodine,**113**)和山莨菪碱(anisodamine,**114**)等。

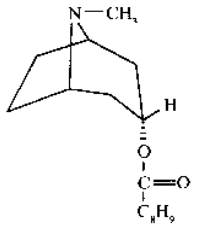
表 4-9 常见的莨菪烷生物碱的组分及其水解形成的胺醇与酸

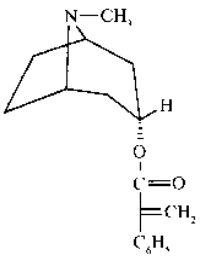
生物碱	分子式	熔点/℃	$[\alpha]_D$	氨醇	酸
莨菪碱 hyoscyamine (**108**)	$C_{17}H_{23}O_3N$	111	−21°	莨菪醇 (**115**)	*l*-莨菪酸 (**118**)
阿托品 atropine (**98**)	$C_{17}H_{23}O_3N$	118	0°	莨菪醇 (**115**)	*dl*-莨菪酸 (**119**)
颠茄碱 belladonine (**109**)	$C_{34}H_{42}O_4N_2$	129	0°	莨菪醇 (**115**)	*β*-异莨菪酸 (**120**)
苯甲酰莨菪碱 benzoyltropein (**110**)	$C_{15}H_{19}O_2N$	58	0°	莨菪醇 (**115**)	苯甲酸
去水阿托品 apotropine 或 atropamine (**111**)	$C_{17}H_{21}O_2N$	60	0°	莨菪醇 (**115**)	*dl*-莨菪酸 (**119**)
东莨菪碱 scopolamine 或 hyoscine (**112**)	$C_{17}H_{21}O_4N$	59	−18°(EtOH)	东莨菪醇 (**116**)	*l*-莨菪酸 (**118**)
樟柳碱 anisodine (**113**)	$C_{17}H_{21}O_5N$	200	−29.46°(H_2O)	东莨菪醇 (**116**)	樟柳酸 (**121**)
山莨菪碱 anisodamine (**114**)	$C_{17}H_{21}O_4N$	64(含苯) 85.5	−19.26°(H_2O)	6-羟基莨菪醇 (**117**)	*l*-莨菪酸 (**118**)

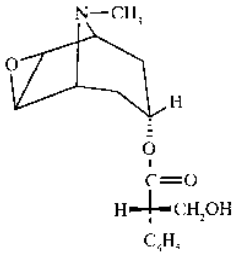
莨菪烷类生物碱均由氨醇与有机酸组成酯,易于被碱和酸水解而得到氨醇与有机酸,水解也是阐明结构常用方法。莨菪碱水解成莨菪醇(tropine)和左旋莨菪酸[(−)-tropic acid]。几种主要的莨菪生物碱水解所形成的胺醇与酸见表4-9。

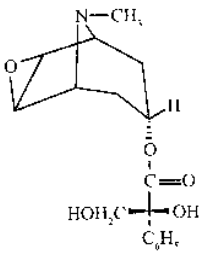

108

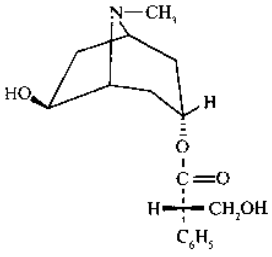

109

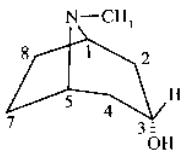

110

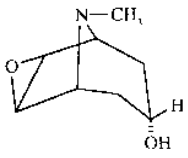

111

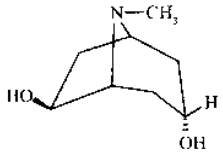

112

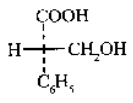

113

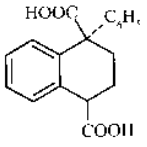

114

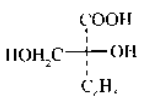

115


116

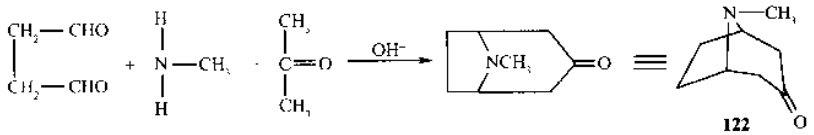

117


118


120


121

Robinson 曾将丁二醛、甲胺与丙酮于碱水溶液中长时间放置即可合成莨菪酮(**122**),即与莨菪醇(**115**)的氧化产物相同,从而证明了莨菪生物碱的结构与生物合成途径[33]:



122

莨菪醇的基本骨架为莨菪烷,它由吡咯烷与哌啶骈合所成,C_1、C_5 为手性中心,由于与氮桥相连,组成分子内消旋,所以没有旋光,莨菪烷的立体结构有两种稳定形式:



a **b**

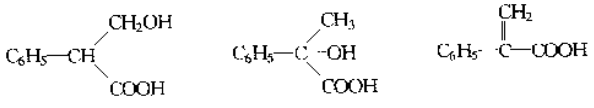
阿托品(消旋莨菪碱)是副交感神经抑制剂,常用以治疗肠胃及肾绞痛等症,同时有放大瞳孔的作用。东莨菪碱则有镇痛作用,中药麻醉药方剂中以洋金花(*Datura metel* L.)为主,后者经分析主要含东莨菪碱,它是中药麻醉药的主要活性成分。

樟柳碱是一个胆碱能神经阻滞剂,对中枢作用较强,能解有机磷毒,并用以治疗脑血管闭塞性疾患、血管神经性偏头痛等症。山莨菪碱也是胆碱能神经阻滞剂,具有扩张微小动脉,改善微循环的良好作用,用于治疗急性微循环障碍性疾病,如急性阑尾炎、中毒性休克、急性肾炎合并心力衰竭、高血压脑病及肺部改变、美尼尔氏综合症、胰腺炎等症。

1. 莨菪碱与阿托品

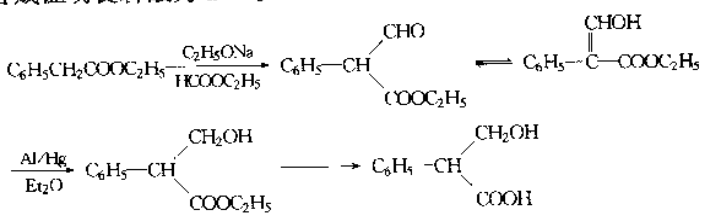
莨菪碱和阿托品是从茄科颠茄(*Atropa belladonna* L.)或曼陀罗(*Datura stramonium* L.)的叶、花、根及种子中分离得到的生物碱,含量为 0.2%～1.5%。莨菪碱是左旋生物碱,为细针状结晶,熔点 111℃,易溶于一般有机溶剂。硫酸盐 $B_2 \cdot H_2SO_4 \cdot 2H_2O$,熔点 206℃,$[\alpha]_D$ −28°(H_2O),氢溴酸盐 $B \cdot HBr \cdot 2H_2O$,熔点 152℃。阿托品是消旋莨菪碱,熔点 118℃,如加热很快则易升华。易溶于乙醇、氯仿,难溶于乙醚。医用阿托品为硫酸盐 $B_2 \cdot H_2SO_4 \cdot H_2O$,熔点 195～196℃,易溶于水。氢溴酸盐 $B \cdot HBr$,熔点 163～164℃,草酸盐熔点 198℃。将莨菪碱加热或用碱处理,即消旋化转为阿托品,因而有人认为阿托品不是天然产物,而是在提取过程中消旋化的。阿托品与莨菪碱经碱水解都生成莨菪醇(tropine,**115**)与消旋莨菪酸(+/− tropic acid,**119**)。但莨菪碱如在冷水中仔细水解则可分得莨菪醇与左旋莨菪酸(**118**)。

莨菪酸 $C_9H_{10}O_3$ (**118**)经脱水得去水莨菪酸(**123**),后者经高锰酸钾氧化即得苯酰甲酸(phenyeglyoxylic acid),因此莨菪酸可能是 **a** 或 **b**,去水莨菪酸如**123** 所示。



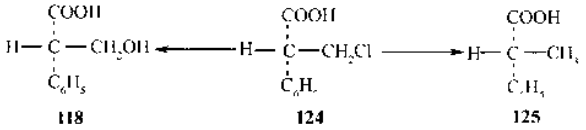
a **b** **123**

最后经下列方法合成证明莨菪酸为 **a**[34]。

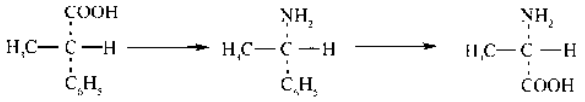


左旋莨菪酸的绝对构型是根据其与丙氨酸的关系而确定的。(+)-甲基苯乙酸(**126**)可能转化成相应的 L(+)-丙氨酸(S 型,**127**),因此,(+)-甲基苯乙酸的绝对构型为 S 型。(−)-β-氯氢化莨菪酸(β-chlorohy-

droatropic,**124**)可氢解成(－)-甲基苯乙酸(**125**),为 *R* 型[因(＋)-甲基苯乙酸为 *S* 型],也可水解成(－)-莨菪酸(**118**),因此 **118** 也应为 *S* 构型。

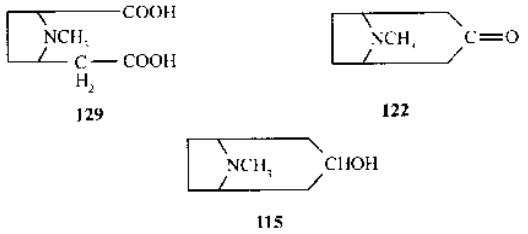


118 **124** **125**



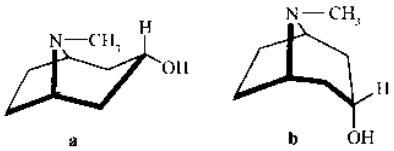
126 **127**

莨菪醇 $C_8H_{15}ON$ (**115**)是一个强碱性胺醇,能在空气中吸收二氧化碳成莨菪酮(**122**),因此莨菪醇为仲醇,莨菪酮又可被 Zn-HCl 还原成莨菪醇,或为钠汞齐还原成伪莨菪醇(*ϕ*-莨菪醇,**128**),它是莨菪醇的差向异构体。莨菪酮能与苯甲醛缩合成双苯亚甲基(dibenzylidene),因此莨菪酮应含—CH_2COCH_2—部分结构,此外用铬酸氧化莨菪酮能形成双羧酸消旋托品酸(tropinic acid)$C_8H_{13}O_4N$ (**129**),后者的碘甲烷化合物用氢氧化钠水溶液加热得不饱和酸。氢化后即成庚二酸(pimelic acid)HOOC-$(CH_2)_5$-COOH,因此托品酸应是 7 个碳的长链,而莨菪酮则是 7 个碳的环酮,鉴于托品酸含—COOH—与—CH_2COOH,就不可能含三元或四元环,而应是结构式**129**,相应地,莨菪酮为 **122**、莨菪醇为 **115**。



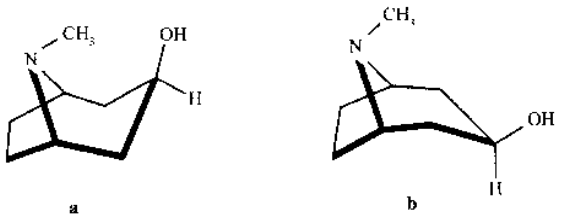
129 **122** **115**

为证明莨菪醇的结构,文献中有许多反应与路线的报道,特别是霍夫曼降解产物,但都比较复杂,走了不少弯路,上述只是选择其中的一种。莨菪醇与 *ϕ*-莨菪醇的立体结构业经证明为椅式,在下述 **a**,**b** 两种形式中以 **a**(即椅式)为主,且为 3*α*-醇,它与 *N*-甲基桥为顺式。



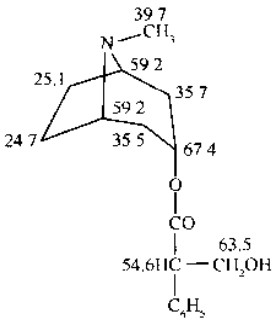
a **b**

ϕ-莨菪醇(*ϕ*-tropinol)也有两种形式,也是以 **a** 占优势,为 3*β*-醇,它与 *N*-甲基桥为反式。X 射线衍射分析证明莨菪醇应是 *S*-3*α*-羟基莨菪烷,*ϕ*-莨菪醇为 *S*-3*β*-羟基莨菪烷。



a **b**

莨菪碱的结构式为 *S* (－)-莨菪酸-3*α*-莨菪醇,如**108** 所示。莨菪碱的 ^{13}C-NMR 数据如下[35]:



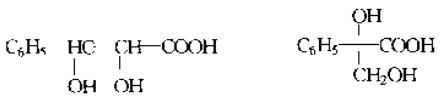
108

2．樟柳碱和山莨菪碱[36,37]

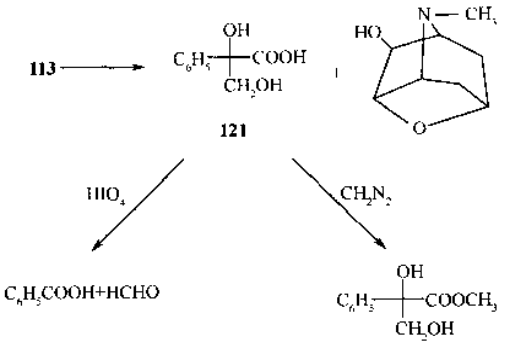
樟柳碱(anisodine,**113**)与山莨菪碱(anisodamine,**114**)是从唐古特山莨菪[*Anisodus tanguticus* (Max.) Pasch.(= *Scopolia tangutica* Max.)]的根部中分得的两个新生物碱。由于发现它们有扩张微小动脉,改善微循环作用而受到重视。

樟柳碱的结构通过下列反应证明:

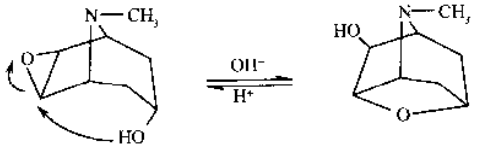
用16% HBr水解樟柳碱得樟柳酸(**121**)与异东莨菪醇(scopoline,**130**),后者与东莨菪碱或阿托品水解所得的胺醇相同,樟柳酸$C_9H_{10}O_4$经过碘酸氧化得苯甲酸与甲醛,水蒸气蒸出的甲醛通过组成二甲酮(dimedon)证明,因此樟柳酸可能为以下两个结构:



当用重氮甲烷甲基化得甲酯。它们的^{1}H-NMR可见δ 3.85(甲酯),3.80,4.20(各d, J = 11 Hz),为β碳两个质子信号,δ 7.05~7.50(单取代苯的五个质子信号),因而樟柳酸的结构如**121**所示。



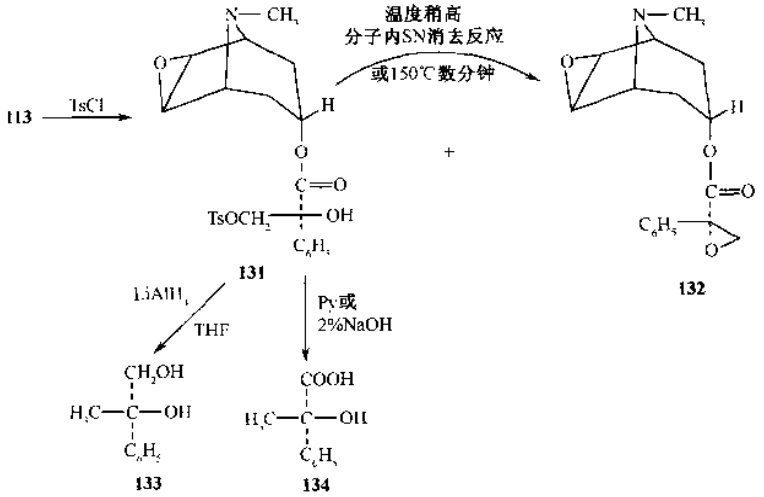
樟柳碱用0.5mol/L NH_4OH与0.5mol/L NH_4Cl作用,都只能得到异东莨菪醇(**130**)。只有在-10℃时用HCl-$CHCl_3$处理,可得原形东莨菪醇(scopine,**116**),这是因为东莨菪醇的环氧不稳定,在碱性情况下即转成异东莨菪醇。



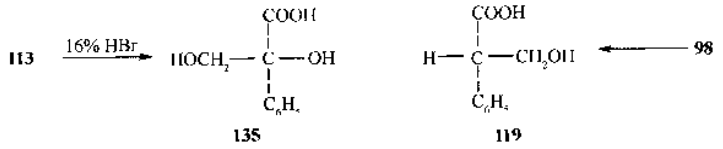
116 130

为证明樟柳碱中樟柳酸的绝对构型,先在吡啶中与对甲苯酰氯TsCl作用得化合物**131**与**132**,后者的环

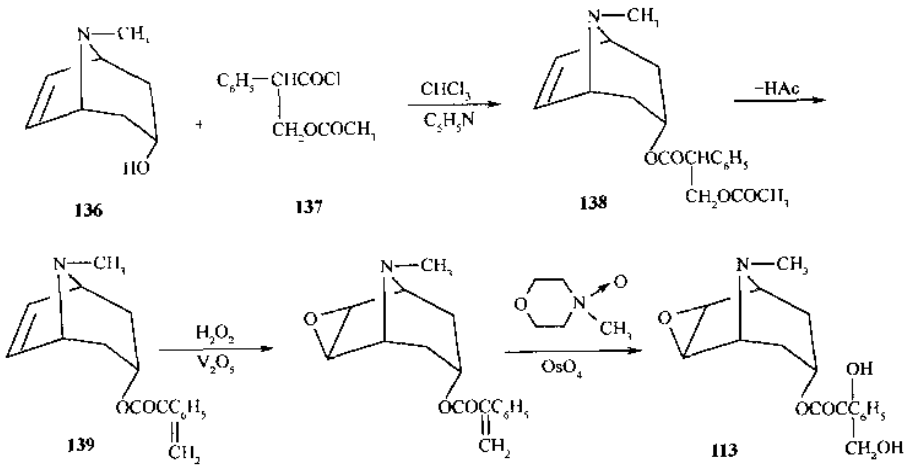
丙醚由 δ 3.25(d, J =7 Hz)而证明,**131** 用 $LiAlH_4$ 在四氢呋喃中还原水解成**133**,$[\alpha]_D$ −29.4°,熔点 137~139℃或者用吡啶或 2% NaOH 水解得苯基乳酸酯**134**、**133** 的构型与 (−)-2-苯基-1,2-丙二醇的绝对构型相同,为 R 型,相应的**134** 也为 R 型。



化合物**131** 中与对甲苯酰氯相连的 CH_2 的^{1}H-NMR 信号为 δ 1.2(d, J = 10.5 Hz),这是由于受对甲苯磺酰基(Ts)的去屏蔽作用,它比化合物**132**〔3α-(2′-苯基-2′,3′-环氧丙酰氧基-6,7-β-环氧莨菪烷)的环氧部分次甲基(δ 3.5, J = 7 Hz)在更高场,J 值也大。也可用樟柳碱与 16% HBr 作用得**135**,为 S 型,与阿托品**98** 水解产物莨菪酸 **119** 相同,同为 S 型。



樟柳碱可用下列方法合成[38]:将 3α-羟基莨菪烯 6 (**136**)与乙酰托品酰氯(**137**)反应得(**138**),然后在吡啶中加热发生分子内消除乙酸得 3α-阿托酰氧基莨菪烯 6 (**139**),环氧化后再用 N-甲基吗啡 N 氧化物与四氧化锇双羟基化得樟柳碱(**113**)。

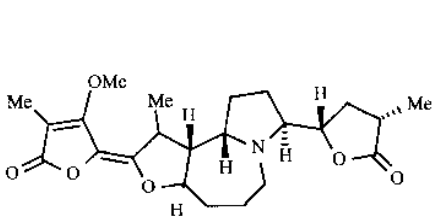


山莨菪碱(**114**)即 6(S)羟基莨菪碱,其结构经东莨菪碱(scopolamine,**112**)用 Reney-Ni 氢化还原,分得 6(S)羟基莨菪碱得到证明[39]。同时分得的产物还有 6(R)羟基莨菪碱及莨菪碱。

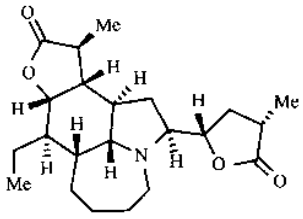
四、百部(*Stemona*)生物碱类

百部为传统中药之一,用以止咳与杀虫,野生于长江以南各省区,常见的有对叶百部(*Stemona tuberosa* Lour)、直立百部[*S. sessilifolia* (Miq.) Miq.]、蔓生百部(*S. japonica* Miq.),海南省还有细花百部(*S. parviflora* C.H. Wright)等多种。

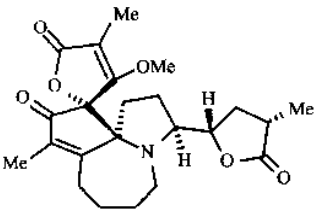
20世纪30年代初,德国的Schild[40]等曾通过霍夫曼降解、溴氰化、氧化、还原等化学方法初步确定了对叶百部碱(tuberostemonine)的官能团。50年代,加拿大学者Götz和Boyri[41,42]等继续对该化合物做了大量的化学研究,并应用当时新发展起来的UV、IR、MS、NMR等波谱技术方法,首次确定了其平面结构。Edwards[43]在60年代通过X射线衍射实验最终确定了其立体构型。我国化学家朱任宏[44]对直立百部(*S. sessilifolia*)和对叶百部(*S. tuberosa*)的化学成分进行了细致的研究,分离得到直立百部碱(sessilistemonine,即原百部碱)和对叶百部碱(tuberostemonine),并制得与HI和$HClO_4$等成盐的化合物。进入20世纪80年代以后,随着波谱技术的迅速发展,百部生物碱结构鉴定工作在我国有了很大的进展。朱子清、郭伽[45,46]等从四川产对叶百部和甘肃产一百部中分离得到了百部新碱(stemoninine),并利用化学衍生化、^{1}H-NMR及^{13}C-NMR推导了其平面结构。徐任生[47~49]等首次应用2D-NMR波谱技术确定了云南对叶百部中两种结构复杂的新生物碱,即滇百部碱(stemotinine,**151**)和异滇百部碱(isostemotinine,**152**)的化学结构,其结构与X射线测定结果一致,从而推动了现代波谱技术在百部生物碱结构鉴定中的应用。林文翰[50~58]、叶阳[59~63]等系统地研究了国产六种百部科植物的生物碱组成,从中分离、鉴定了大量新生物碱,包括一些新的生物碱骨架,部分结构经X射线证实(表4-10)。这些生物碱的结构大多含有1~2个α-甲基-γ-内酯环,而氮则以叔胺形式存在于氮杂奠(azaazulene)环,有一个α-甲基-γ-内酯环,大部分连接在吡咯烷α位,可分成原百部碱(protostemonine,**99**)、大叶百部碱(tuberostemonine,**100**)、狭叶百部碱(maistemonine,**140**)、细花百部碱(parvistemonine,**141**)、百部新碱(stemoninine,**142**)、百部叶碱(stemofoline,**143**)、金刚大碱(croomine,**144**)等多种结构类型。随后秦国伟[64]、徐任生[65]对部分百部生物碱研究作了简要的综述。Aloise[66]等对1975年以后百部生物碱的分离与化学合成也做了详细的综述。百部中的生物碱成分如表4-10所示。



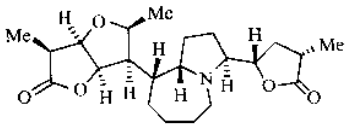
99



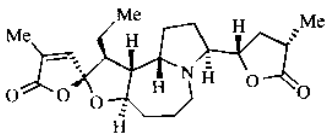
100



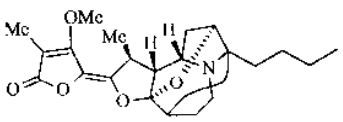
140



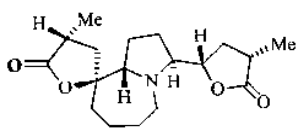
141



142



143



144

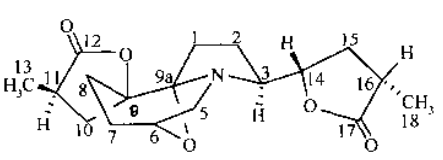
表 4-10 百部中的生物碱成分[47]

生物碱	分子式	熔点/℃	$[\alpha]_D$
原百部碱 (protostemonine, **99**)	$C_{22}H_{31}O_6N$	172	+170° (EtOH)
对叶百部碱 (tuberostemonine, **100**)	$C_{22}H_{33}O_4N$	88	−47° ($CHCl_3$)
狭叶百部碱 (maistemonine, **140**)	$C_{23}H_{29}O_6N$	205～207	
细花百部碱 (parvistemonine, **141**)	$C_{22}H_{33}O_5N$	296	
百部新碱 (stemoninine, **142**)	$C_{22}H_{31}O_5N$	113～115	−110° (EtOH)
百部叶碱 (stemofoline, **143**)	$C_{22}H_{29}O_5N$	87～89	+273° (MeOH)
金刚大碱 (croomine, **144**)	$C_{18}H_{23}O_4N$	沸点 210～215/2×10 $^{-3}$mmHg	+7.8° ($CHCl_3$)
百部碱 (stemonine, **145**)	$C_{17}H_{25}O_4N$	151	−114° (EtOH)
百部宁 (stenine, **146**)	$C_{17}H_{27}O_2N$	65～67	−30° (MeOH)
氧代对叶百部碱 (oxotuberostemonine, **147**)	$C_{22}H_{31}O_5N$	222	
蔓生百部碱 (stemonamine, **148**)	$C_{18}H_{23}O_4N$	172～174	
异蔓生百部碱 (isostemonamine, **149**)	$C_{18}H_{23}O_4N$	165～190	
百部定碱 (stemonidine, **150**)	$C_{18}H_{29}O_5N$	119	−5.4° (Me_2CO)
滇百部碱 (stemotinine, **151**)	$C_{18}H_{25}O_5N$	207～208	+91.7° (MeOH)
异滇百部碱 (isostemotinine, **152**)	$C_{18}H_{25}O_5N$	245～246	+47.5° (MeOH)

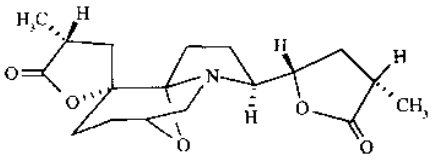
1. 滇百部碱与异滇百部碱

从云南产大叶百部中分得两个新生物碱：滇百部碱(stemotinine, **151**)和异滇百部碱(isostemotinine, **152**)，首次应用质谱与^{1}H-NMR及二维核磁共振技术，推定了结构[47]。

滇百部碱，$C_{18}H_{25}O_5N$，HRMS M^+ (m/z) 335.1751，紫外无吸收，红外 1764 cm^{-1}，1190 cm^{-1}(γ-内酯环)，无 NH、OH 和双键吸收，以及^{13}C-NMR δ 179.2，179.7 两个信号表明分子内含两个 γ-内酯环，一个醚键与叔氮，按不饱和数 7 计算，则应是 −个五环化合物。质谱中 M^+-$C_5H_7O_2$(M^+-99)碎片是所有具连接于吡咯烷基(pyrrolidine)环 α-甲基-γ-内酯环的百部生物碱的特征信号。根据^{1}H-NMR 二维谱及去偶技术推定，它的结构如**151** 所示。H-10α，δ 2.61 远较 H-10β，δ 1.70 为低，是因为受四氢吡喃环各向异性的效应。因而螺旋 γ-内酯环向上，鉴于质子信号 H-5、H-7、H-6 与 H-7 之间有远距离 W 形偶合(J = 1.4 Hz)，因而四氢吡喃环为椅式构型，另一个 α-甲基-γ-内酯环则向下。其立体构型则根据 NOE 确定如**151** 所示。5α-H 与 5β-H、3α-H 及 6-H 间的 NOE 增益进一步证实了这一构型。



151



152

异滇百部碱分子式与滇百部碱相同，^{1}H-NMR，红外光谱也类同，但 H-10α，β2.10 比滇百部碱的相应质子(δ 2.61)信号高 0.51ppm，推测螺旋内酯环向下，由于失去氧环效应，因而此质子信号偏高，并与 H-10 β，δ 1.71接近，如**152** 所示。滇百部碱及**异滇百部碱**的^{1}H-NMR 谱数据如表 4-11 所示。

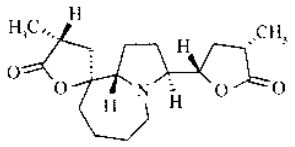
这是在 1982 年首次用 NMR 技术阐明这一类复杂的结构，该结构已由麦松威采用 X 射线衍射法证实[49]。目前二维 NMR 如 HMBC、HMQC、ROESY 等技术已普遍应用于这类复杂生物碱结构的解析。

与滇百部碱同属一类结构的还有从百部科黄金叶钩吻属金刚大(*Croomia japonica*)中得到的金刚大碱(croomine, **144**)，以及分布于蔓生百部和直立百部中的百部定碱(stemonidine, **150**)。在推导滇百部碱时，徐任生曾推定了百部定碱的结构[47]。后经 X 射线衍射法证实，**150** 与 stemospironine 为同一化合物[66, 67]。

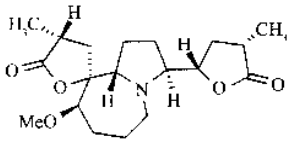
表 4-11 滇百部碱及异滇百部碱的^{1}H-NMR 谱数据

编号	滇百部碱 stemotinine (**151**)	异滇百部碱 isostemotinine (**152**)
1α, β	1.86 m 和 1.91 m	1.88 m 和 1.92 m
2α, β	1.72 m 和 1.98 m	1.60 m 和 2.15 m
3α	2.86 ddd 10.8 (2β), 8.8 (14β), 4.8 (2α)	2.93 ddd 10.8 (2β), 7.8 (14β), 6.1 (2α)
5α	3.00 ddd 10.7 (5β), 6.3 (6), 1.4 (7α)	3.04 dd 10.4 (5β), 6.3 (6)
5β	3.22 d 10.7 (5α)	3.20 d 10.4 (5α)
6	4.59 m 6.3 (5α), 2.0 (7α), 2.0 (7β),1.4 (8α)	4.68 ddd 6.3 (5α), 2.0 (7α), 2.0 (7β)
7α	1.81 m 13.5 (8β), 12.6 (7β), 4.9 (8α)	NA
7β	1.62 bdd 12.6 (7α), 5.4 (8β), 1.8 (8α)	NA
8α	1.55 ddt 13.5 (8β), 4.9 (7α), 1.8 (7β), 1.8 (6)	NA
8β	2.34 dt 13.5 (8α), 13.5 (7α), 4.4 (7β)	NA
10α	2.61 dd 14.6 (10β), 11.6 (11)	2.10 dd 13.1 (10β), 10.0 (11)
10β	1.70 dd 14.6 (10α), 6.3 (11)	1.71 dd 13.1 (10α), 12.6 (11)
11	2.81 ddq 11.6 (10α), 7.7 (11-Me),6.3 (10β)	2.80 ddq 12.6 (10β), 10.0 (10α), 7.7 (11-Me)
13-Me	1.34 d 7.7 (11)	1.28 d 7.7 (11)
14β	4.26 ddd 11.3 (15α), 8.8 (3α), 4.4 (15β)	4.14 ddd 11.3 (15α), 7.8 (3α), 4.4 (15β)
15α	1.48 ddd 12.6 (16β), 12.6 (15β), 11.3 (14β)	1.58 ddd*
15β	2.36 ddd 12.6 (15α), 9.0 (16β), 4.4 (14β)	2.36 ddd*
16β	2.67 ddq 12.6 (15α), 9.0 (15β), 7.5 (16-Me)	2.66 ddd*
18-Me	1.26 d 7.5 (16β)	1.28 d*

注:NA 表示未测得信号



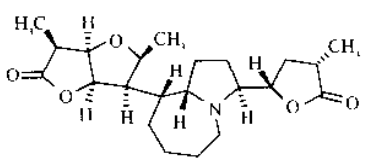
144



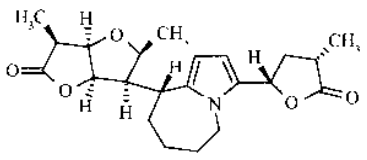
150

2. 细花百部碱

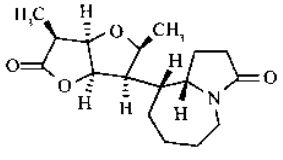
从海南岛产细花百部(*Stemona parviflora* C. H. Wright)中分得细花百部特有的一类生物碱结构,目前已经分离得到 4 种同类结构。细花百部碱(parvistemonine, **141**), $C_{22}H_{33}O_5N$, 熔点 296℃, M^+ (m/z) 391.2316。红外 1765 cm^{-1}、1775 cm^{-1}、1172 cm^{-1}和 1120 cm^{-1}。其结构通过去偶、^{1}H-^{1}H 相关谱、NOE 相关谱以及^{1}H-^{13}C 相关谱等技术推定,并经其氢溴酸盐的 X 单晶衍射方法进一步确证。其绝对构型为 3*S*、9*R*、9a*S*、10*S*、11*R*、12*R*、13*R*、16*S*、18*S*、20*S*[68]。从其根部还分离得到了脱氢细花百部碱(bisdehydroparvistemonine, **153**)和细花百部酰胺(parvistemoline, **154**)[51]。一般 C-3 位连接有一个 α-甲基-γ-内酯,所以在 EIMS 中也有特征的[M-99]$^+$碎片峰。另外,这类生物碱的 C-9 位连接有一个 α-甲基-γ-内酯环骈 α-甲基呋喃环侧链,这些结构特征在 IR 谱中也有体现(1775～1785cm^{-1}、1350～1450cm^{-1}、1150～1200cm^{-1});在^{1}H-NMR 高场(0.8～2.0ppm, d, J = 7.0Hz, Me-15, Me-17, Me-22)中有三个叔甲基双峰信号。



141

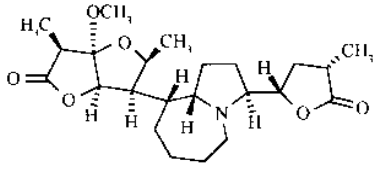


153



154

从细花百部茎叶部位得到12α-甲氧基细花百部碱(12α-methoxylparvistemonine,**155**),$[\alpha]_D$ +80.6°,紫外最大吸收在234 nm,EIMS提示其相对分子质量为421,HREIMS进一步确定其分子组成为$C_{23}H_{35}NO_5$(*m/z* 421.2488),不饱和度为7。EIMS中的碎片峰135提示分子中可能含有百部生物碱氮杂萘环的基本骨架结构,其基峰为322 [M-99]$^+$,提示A环3位接有一个α-甲基-γ-内酯环。IR中的1778cm^{-1}、1775 cm^{-1}、1189 cm^{-1}、1050 cm^{-1}以及^{13}C-NMR谱中的两个季碳(δ 179.7、176.3ppm)提示分子中含有两个γ-内酯环,^{13}C-NMR DEPT135°以及^{1}H-NMR谱中提示分子中含有3个叔甲基(δ 1.34 ppm, d, Me-15; 1.19 ppm, d, Me-17; 1.25 ppm, d, Me-22),1个甲氧基(δ 3.35 ppm, s, MeO-23)、7个CH_2、9个CH和3个季碳。另外,特征偕二质子信号5-CH_2(δ 3.37 ppm, m, H-5α; 2.58 ppm, m, H-5β)也说明了氮杂萘环的基本骨架结构的存在。根据生源关系和^{1}H-NMR相关数据比较,发现该化合物比细花百部碱(**141**)多一个甲氧基信号,而未出现**141**中H-12质子信号,其他信号基本一致。因此推测该化合物可能为12位甲氧基取代的细花百部碱。该推断进一步得到^{1}H-^{1}H COSY、HMQC及HMBC相关信号的支持。归属的该化合物^{1}H-NMR和^{13}C-NMR信号见表4-12,**155**中12位甲氧基的α构型由NOESY谱确定[69]。12α-甲氧基细花百部碱的^{1}H-^{1}H、NOESY、HMBC、HMQC相关谱如图4-2～图4-5所示。



155

表4-12 12α-甲氧基细花百部碱的^{1}H-NMR、^{13}C-NMR数据及HMBC相关关系($CDCl_3$)

编号	^{1}H-NMR δ/ppm	J/Hz	^{13}C-NMR δ/ppm	HMBC(C→H)
1	1.40, m; 1.64, m		27.1 (t)	H-3, H-9
2	1.59, m; 1.75, m		26.9 (t)	
3	3.40, m		63.7 (d)	H-1, H-19
5	α 2.85, m; β 3.37, m		46.6 (t)	H-3
6	1.42, m; 1.70, m		24.8 (t)	H-8
7	1.38, m; 1.77, m		28.7 (t)	H-5, H-9
8	1.45, m; 1.91, m		26.9 (t)	H-6
9	2.15, ddd		39.0 (d)	H-1, H-7
9a	3.43, ddd		62.9 (d)	H-2, H-8, H-10
10	2.30, ddd		47.4 (d)	H-8, Me-17
11	4.60	4.3	86.4 (d)	H-16
12	—		110.3 (s)	H-16, MeO-23, Me-15
13	2.89, q	7.2	44.7 (d)	
14	—		176.3 (t)	H-11, Me-15
15-Me	1.34, d	7.2	10.0 (q)	
16	4.48, dq	6.7, 7.2	79.4 (d)	H-10, H-11
17-Me	1.19, d	6.7	19.4 (q)	H-10
18	4.18, m		83.4 (d)	H-2
19	1.55, m; 2.35, m		34.2 (t)	Me-22, H-20
20	2.59, m		34.0 (d)	
21	—		179.7 (s)	H-19, Me-22
22-Me	1.25, d	7.0	15.0 (q)	H-19, H-20
23-OMe	3.35, s		51.2 (q)	

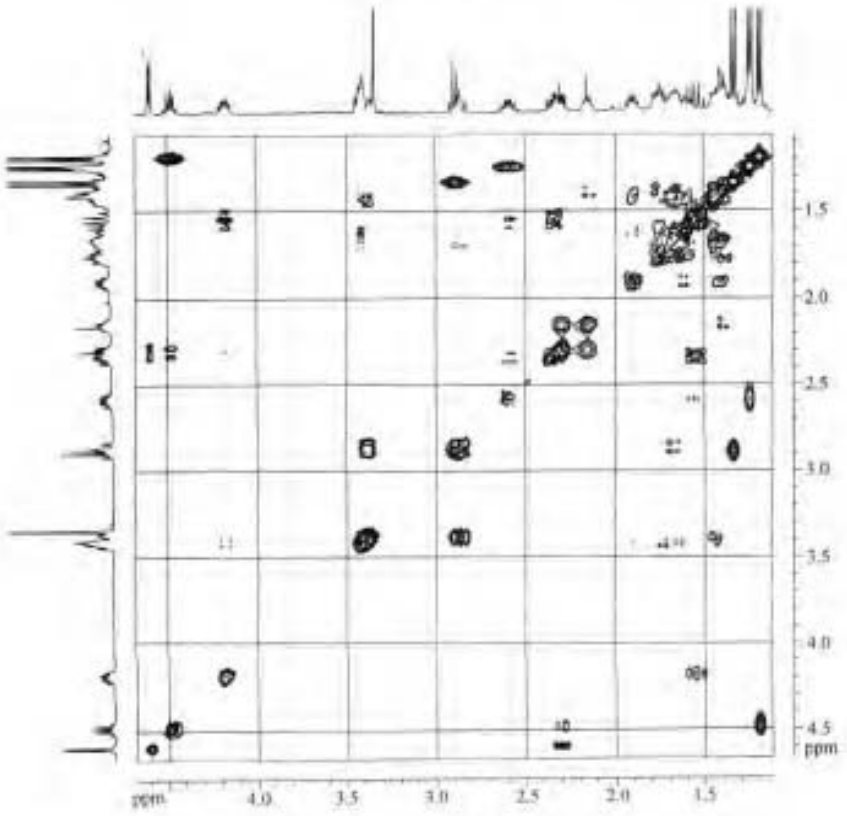


图 4-2 12α-甲氧基细花百部碱的^{1}H-^{1}H 相关谱($CDCl_3$, 400 MHz)

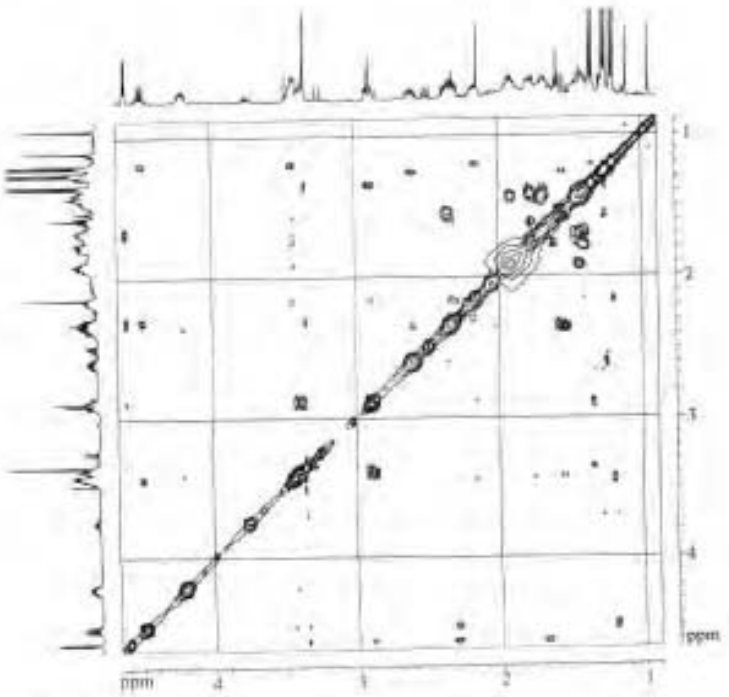


图 4-3 12α-甲氧基细花百部碱的 NOESY 相关谱($CDCl_3$, 400 MHz)

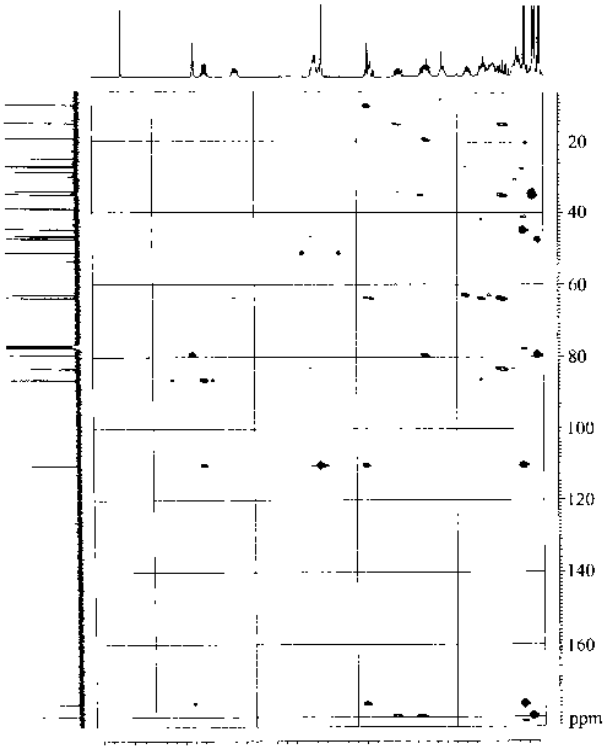


图 4-4 12α-甲氧基细花百部碱的 HMBC 相关谱($CDCl_3$)

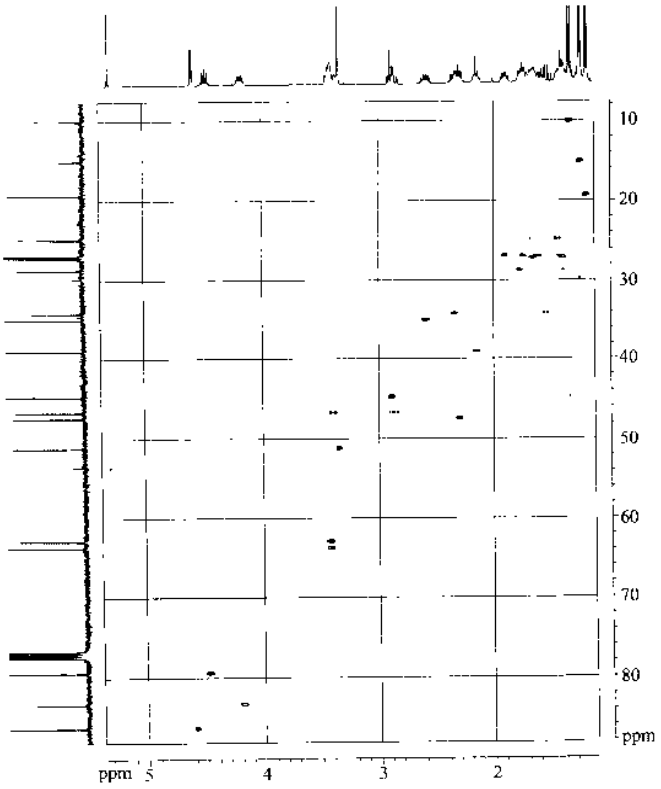
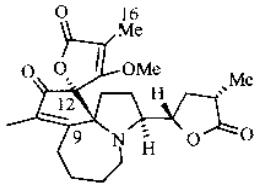


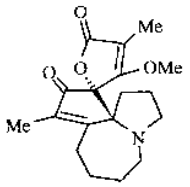
图 4-5 12α-甲氧基细花百部碱的 HMQC 相关谱($CDCl_3$)

3. 狭叶百部碱

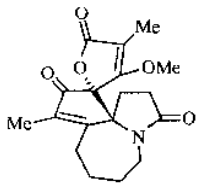
从云南产狭叶百部(*Stemona mairei*)、蔓生百部和直立百部中分得一系列含有不饱和环酮与不饱和γ-内酯呈螺环连接的生物碱,其代表性结构为狭叶百部碱(maistemonine, **140**)[70]。该类化合物中的蔓生百部碱(**148**)结构业经 X 射线衍射法确定[71], **140**、Stemonamide(**156**)、isostemeistemonine(**157**)、isostemonamine(**158**)及 isostemonamide(**159**)结构中 C-12、C-16 及甲氧基氢的化学位移因螺环不同的立体取向所受到的屏蔽作用呈现出规律性。各化合物不饱和 γ-内酯螺环的取向通过与**148** 的^{1}H 及^{13}C 波谱数据比较确定[60]。



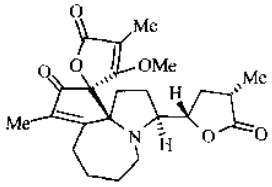
140



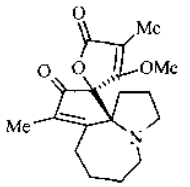
148



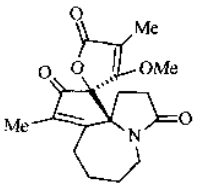
156



157



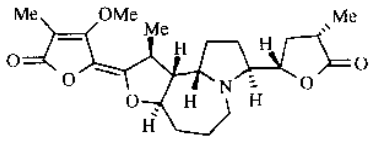
158



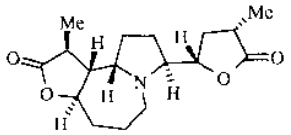
159

4. 原百部碱

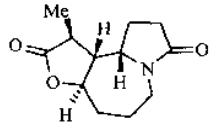
原百部碱型化合物是在百部科植物中分布较广泛、含量较高、被研究得最早的一类生物碱。目前已报道的有 8 种,分别是:原百部碱(protostemonine, **99**)[72, 73]、百部碱(stemonine, **145**)[74, 75]、stemonamide(**160**)[56]、bisdehydroprostemonine(**161**)[62]、neostemonine(**162**)[62]、bisdehydroneostemonine(**163**)[62]、isoprotostemonine(**164**)[62]、parvistemoamide(**165**)[51]。该类生物碱一般在 C-3 位接有一个 α-甲基-γ-内酯环侧链,因此在 EIMS 中出现[M-99]$^+$(M-$C_5H_7O_2$)特征基峰;IR 中表现为 1740 cm^{-1}附近的羰基吸收峰,1880~1890 cm^{-1}及 1610 cm^{-1}的双键吸收峰;^{1}H-NMR 中有 C 环上叔甲基的双峰(δ 1.4~1.5 ppm, d, Me-17)、D 环上烯甲基(δ 2.0~2.2 ppm, s, Me-16)及甲氧基(δ 3.9~4.5 ppm, s, MeO-23)、B 环的 H-5(δ 3.2~3.7 ppm, dd, α; δ 2.7~2.9 ppm, dd, β)偕二质子裂分峰;^{13}C-NMR 中的特征的羰基季碳信号(δ 170~180 ppm, C-15),以及与氮原子相连的 C-3、C-5 和 C-9a(δ 45~70 ppm)等特征信号。



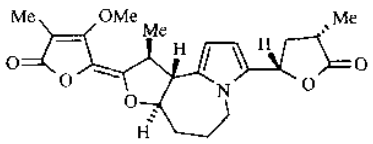
99



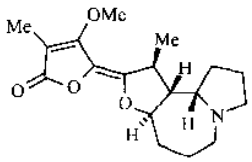
145



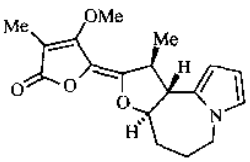
160



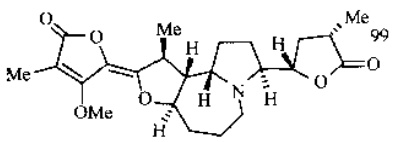
161



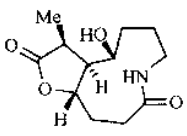
162



163



164

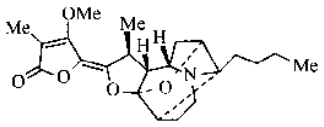


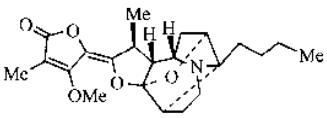
165

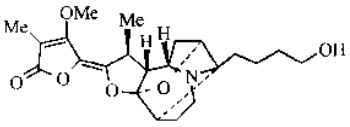
5. 百部叶碱

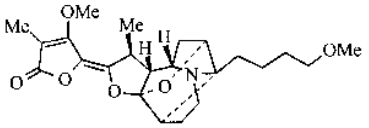
目前发现的这类生物碱有百部叶碱(stemofoline, **143**)[76]、异百部叶碱(isostemofoline, **166**)[77]、氧代百部叶碱(oxystemofoline, **167**)[52]、甲氧代百部叶碱(methoxylstemofoline, **167**)[77]、异甲氧代百部叶碱(isomethoxylstemofoline, **169**)[52]、16,17-didehydro-16(*E*)-stemofoline[78](**170**,与 asparagamine A[79,80]异名同构)和 16,17-didehydro-4(*E*)-16(*E*)-stemofoline (**171**)[78]。

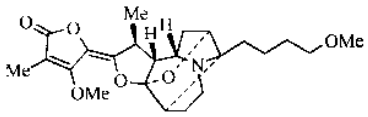
此类生物碱在百部生物碱中结构最为复杂。在 EIMS 中最特征的碎片峰是[M-R]$^+$(R 为 C-3 位所连接的侧链);UV 特征为 290～310 nm 处的强烈吸收;在 IR 谱中有特征的 α-甲基-γ-不饱和内酯吸收峰,如 1780 cm^{-1}附近的羰基吸收峰、1620 cm^{-1}附近的双键吸收峰;^{1}H-NMR 中除了具有原百部碱型的 C、D 环结构的特征信号以外,还有 A 环 C-2 与 B 环 C-8 利用氧桥连接及 A 环 C-3 与 B 环 C-7 的碳碳键连接形成特有的笼状结构,其 H-2 的质子信号为一宽的单峰(δ 4.2～4.5 ppm, bs),H-7 的信号为双峰(δ 2.5～2.8 ppm, bd),明显区别于其他类百部生物碱。近年也发现了一些不含 C_3～C_7 单键的新结构[114,115]。

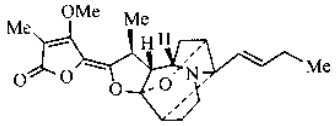

143

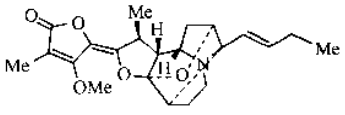

166


167


168

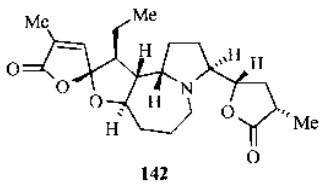

169

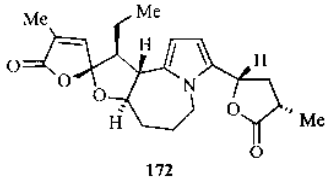

170

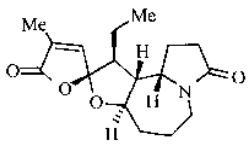

171

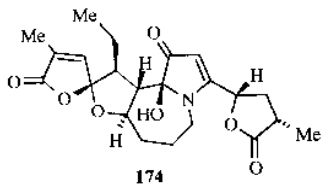
6. 百部新碱

已经报道的百部新碱有 4 种,分别是百部新碱(stemoninine, **142**)[45,46]、脱氢百部新碱(bisdehydrostemoninine, **172**)[63]、stemoninoamide (**173**)[57]和 stemoenonine (**174**)[63]。


142


172


173

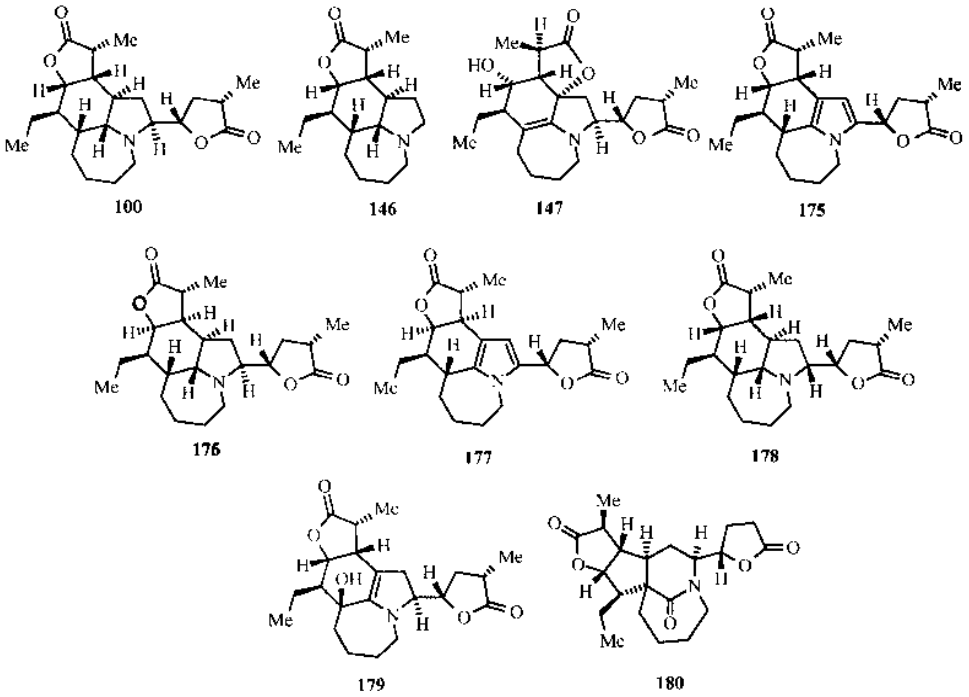

174

此类生物碱也具有 EIMS 中有[M-99]$^+$(M-$C_5H_7O_2$)特征碎片峰;IR 中有 α-甲基-δ-不饱和内酯特征吸

收，该内酯D环以C-11螺环形式连接在C环上，^{1}H-NMR中D环上烯甲基（δ 1.9～2.3 ppm，d，J=1.4～1.7Hz，Me-15）及烯质子（δ 6.8～7.1 ppm，d，J=1.4～1.7Hz，H-12）是特征信号。另外，这类生物碱有一个非常重要的结构特征是C环C-10上连接有一个乙基（C_2H_5），这一结构特征在NMR中有明显的信号（δ 0.8～1.0 ppm，t，Me-17）表征。

7．对叶百部碱

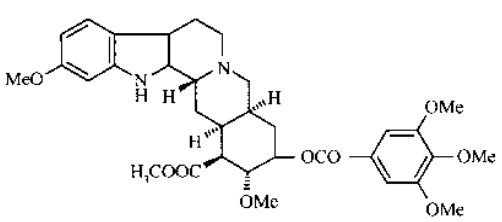
对叶百部碱绝大多数是从对叶百部（*S. tuberosa*）中分离得到的，也是百部中已报道结构最多的一类，目前已知的结构有10种以上，分别是：对叶百部碱（tuberostemonine，**100**）[38-40]、stenine（**146**）[81]、oxotuberostemonine（**147**）[43]、脱氢对叶百部碱（bisdehydrotuberostemonine，**175**）[63]、新对叶百部碱（neotuberostemonine，**176**）[61]、bisdehydroneotuberostemonine（**177**）[61]、tuberostemonine A（**178**）[43]、tuberostemonol（**179**）[56]、tuberostemoninoamide（**180**）[63]等。



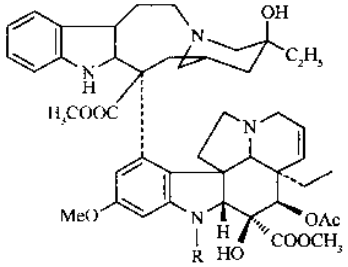
这类生物碱由于绝大多数在C-3连接有α-甲基-γ-内酯，因此在EIMS中都有[M-99]$^+$碎片峰，而且大部分表现为基峰。另外，这类生物碱的C环通过A环的C-1以及B环的C-9位形成六元稠环，D环通过C-11，C-12位形成α-甲基-γ-内酯的五元稠环，其明显的结构特征是在C-10连接有一个乙基（C_2H_5），其甲基化学位移在δ 0.9 ppm附近，t峰，D环C-15的甲基信号也很特征（δ 1.3～1.4 ppm，d，J=7.0Hz）。

第九节 吲哚生物碱

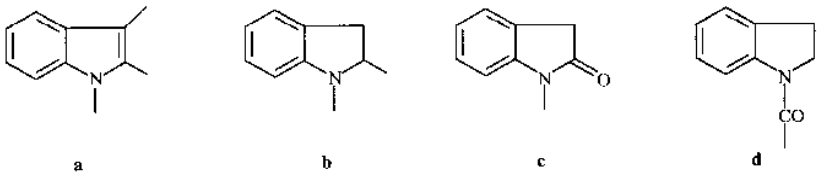
20世纪50年代，自发现降低血压有效成分利血平（reserpine，**181**）与治疗白血病高效药物长春碱（vinblastine，VLB，**182**）与长春新碱（vincristine，VCR，**183**）以来，吲哚类生物碱的研究吸引了许多国家的有机化学家，先后报道了400多个吲哚类生物碱的分离，结构与合成研究，曾压倒了所有其他生物碱与天然产物的化学研究。吲哚生物碱的紫外光谱吸收分别为：吲哚环（**a**）为200，280～290 nm；二氢吲哚（**b**）特征为250 nm特强，它是*N*，*N*-二甲苯胺的吸收；羟吲哚（**c**）的吸收在240 nm左右，与乙酰苯胺相同；*N*-酰吲哚（**d**）在280 nm有强吸收，其次在257 nm、290 nm处有吸收，这主要是由于*N*-酰基与苯环共轭所致。



181



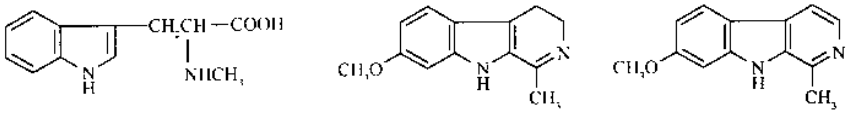
182 R=CH$_3$
183 R=CHO



a b c d

因此紫外光谱吸收是诊断吲哚类型的重要手段，红外光谱吸收峰为 1450 cm^{-1}、1590 cm^{-1}、1620 cm^{-1} 及 3400 cm^{-1}（尖峰，NH），^{1}H-NMR 主要显示各种芳香质子信号。

最简单的如相思豆（*Abrus precatorius* L.）中的相思豆碱（abrine，**163**），熔点 297℃，骆驼蓬（*Peganum harmala* L.）种子中的骆驼蓬碱（harmaline，**185**），熔点 231℃，去氢骆驼蓬碱（harmine，**186**），熔点 261℃等。



184 185 186

一、蛇根草生物碱类

蛇根草又名萝芙木，属夹竹桃科，学名 *Rauwolfia serpentina* L. Benth，是一种热带植物，印度民间用新鲜植物治疗蛇咬，又作为解热止痛之用，以后又发现其根的粗制剂有镇静、催眠作用，因而引起了科学家的重视，对其进行了根部生物碱的分离与研究。1952 年，Müller 等发现在已分离出的各种生物碱中利血平（reserpine）有镇静与降血压作用[82]。同植物中其他主要生物碱约有 50 种以上。

按其骨架可分为育亨宾（yohimbine）、阿马尼新（ajmalicine）、阿马林（ajmaline）及利血平（reserpine）等四类。其中育亨宾为五环吲哚生物碱，D/E 环为反式，阿马尼新的第五环为氧杂环，阿马林为二氢吲哚环，利血平则为第五环中含酯基的生物碱[83]。

我国也产并引种多种萝芙木，主要有中国萝芙木（*Rauwolfia chinensis* Hemcl.）、云南萝芙木（*R. yunnanensis* Tsiang）、催吐萝芙木（*R. vomitoria* Afzel.）等，也分离得到利血平等生物碱，利血平是一个良好的镇静与降血压药物。用中国萝芙木中的弱碱性总生物碱，经试验证明降血压效果更缓和，不良反应小，因而曾以此总碱供药用，称降压灵[84, 85]。

利血平（**181**）$C_{33}H_{40}O_9N_2$，为白色针状结晶，盐酸盐熔点 224℃，硝酸盐熔点 235℃，为含酯的吲哚生物碱，具弱碱性，$pK=6.6$。不溶于水，易溶于氯仿、苯、冰醋酸，较难溶于乙醇、丙酮及乙醚。文献报道了多种提取分离方法，这里介绍较为简便的两个方法。

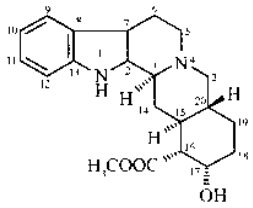
1）将根粉用 12% 氨水湿润后用乙醚回流提取，提取液浓缩后用 2% 乙酸提取，酸提取液用氨水中和至 pH=8，用苯提取，苯液经水洗后用氯化钙干燥，浓缩，残留物用乙醇溶解，过滤，再浓缩，即析出利血平结晶，用乙醇-苯重结晶[86]。

2）根粉用甲醇提取，提取液浓缩后用 5% 乙酸提取，提取液用石油醚洗涤，然后用氯仿提取，氯仿提取液浓缩后再用苯提取，苯液浓缩后经柱层析分离得到利血平，甲醇重结晶[87]。

利血平的紫外光谱吸收 215nm、267nm、295nm(lgε4.79、4.23、4.07),提示含 7-甲氧基吲哚环,红外光谱提示含 NH(3484cm $^{-1}$)芳环、(1580cm $^{-1}$、1500cm^{-1})、两个酯基(1715cm^{-1}、1730 cm^{-1})等功能团。

主要的吲哚类生物碱如下所示:

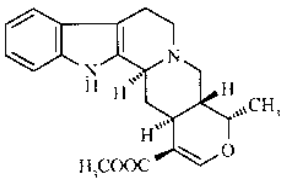
A. 育亨宾类



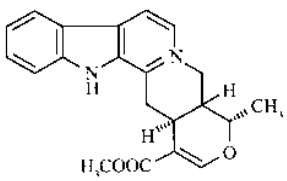
187

生物碱	分子式	熔点/℃	$[\alpha]_D$	结构特征			
				C_3(H),C_{20}(H),C_{16}(COOMe),C_{17}(OH)			
育亨宾 (yohimbine,**187**)	$C_{21}H_{26}O_3N_2$	236	+54°(EtOH)	α	β	α(e)	α(a)
α-育亨宾 (α-yohimbine,**188**)	$C_{21}H_{26}O_3N_2$	236	-26°(EtOH)	α	α	β(e)	α(e)
β-育亨宾 (β-yohimbine,**189**)	$C_{21}H_{26}O_3N_2$	237	-18°(EtOH)	α	β	α(e)	β(e)
ψ-育亨宾 (ψ-yohimbine,**190**)	$C_{21}H_{26}O_3N_2$	268	+27°(py.)	β	β	α(e)	α(a)
3-表-α 育亨宾 (3-epi-α-yohimbine,**191**)	$C_{21}H_{26}O_3N_2$	128 或 183	-100°(py.)	β	α	β(e)	α(e)
别育亨宾 (alloyohimbine,**192**)	$C_{21}H_{26}O_3N_2$	140	-84°(py.)	α	α	β(e)	β(a)
柯楠新 corynanthine (**193**)	$C_{21}H_{26}O_3N_2$	226	-125°(EtOH)	α	β	β(a)	β

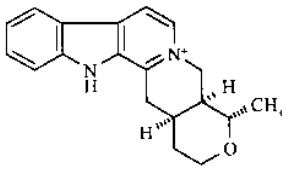
B. 阿马尼新类



194



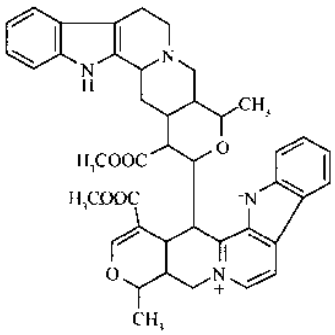
195



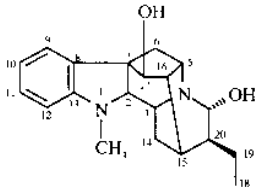
196

生物碱	分子式	熔点/℃	$[\alpha]_D$
阿马尼新(ajmalicine,**194**)	$C_{21}H_{24}O_3N_2$	259	-50°(py.)
蛇根碱 (serpentine,**195**)	$C_{21}H_{23}O_3N_2$	177	+292°(MeOH)
鸭脚木碱(alstonine,**196**)	$C_{21}H_{21}O_3N_2$	210	+141°(H_2O)(盐酸盐)
蛇根双碱(serpentinine,**197**)	$C_{42}H_{40}O_6N$	265	+52°(MeOH)

C. 阿马林类



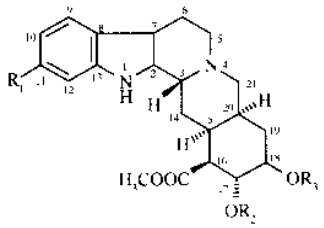
197

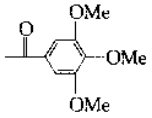
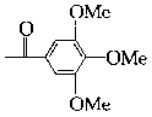
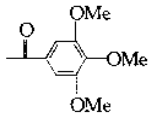
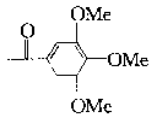
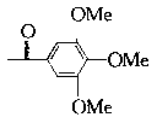
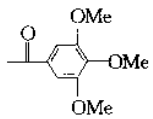
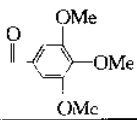


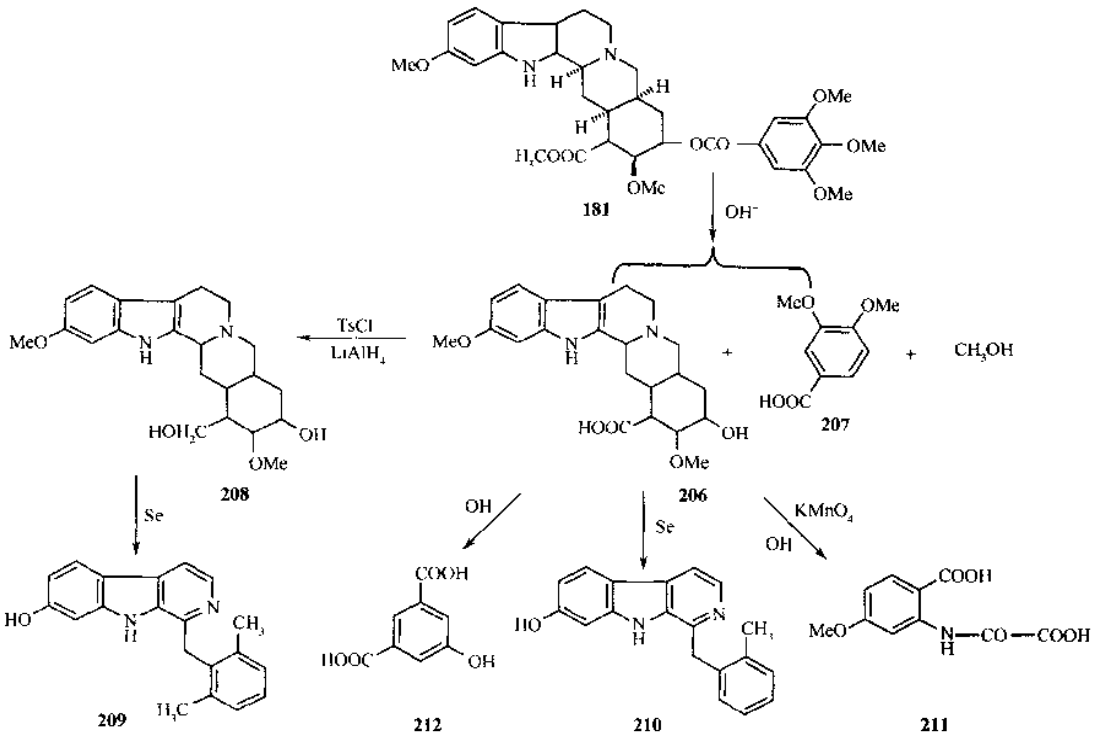
198

生物碱	分子式	熔点/℃	$[\alpha]_D$	结构特征
阿马林(ajmaline,**198**)	$C_{20}H_{26}O_2N_2$	228	+144°($CHCl_3$)	
异阿马林(isoajmaline,**199**)	$C_{20}H_{26}O_2N_2$	266	+72°($CHCl_3$)	C_{20}的差向异构体

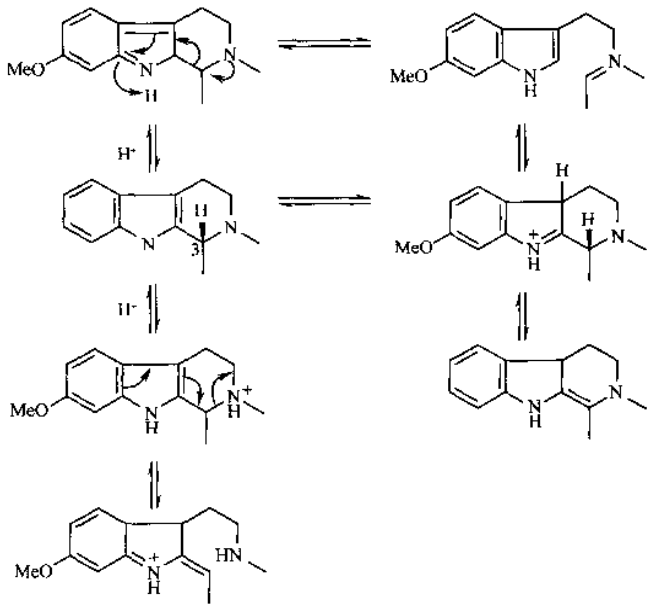
D. 利血平类



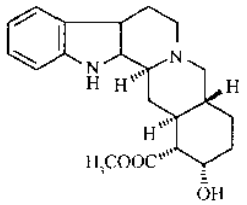
生物碱	分子式	熔点/℃	$[\alpha]_D$	结构特征		
				R_1	R_2	R_3
利血平(reserpine,**181**)	$C_{33}H_{40}O_9N_2$	266 285	−118° ($CHCl_3$)	MeO	Me	
异利血平(isoreserpine,**200**)	$C_{33}H_{40}O_9N_2$	155	−164° ($CHCl_3$)		3αH (290)	
伪利血平(pseudoreserpine,**201**)	$C_{33}H_{38}O_9N_2$	258	−65° ($CHCl_3$)	MeO	H	
底宿吡丁(deserpidine,**202**)	$C_{32}H_{38}O_8N_2$	231	−137° ($CHCl_3$)	H	Me	
萝尼生(raunescine,**203**)	$C_{31}H_{36}O_8N_2$	170(H_2O)	−74° ($CHCl_3$)	H	H	
异萝尼生(isoraunescine,**204**)	$C_{31}H_{36}O_8N_2$	242	−70° ($CHCl_3$)	H		H
萝古斯亭(raugustine,**205**)	$C_{32}H_{38}O_9N_2$	170(H_2O)	−50° ($CHCl_3$)	MeO		H



利血平用碱水解生成利血平酸(**206**)$C_{22}H_{28}O_5N_2$、3,4,5-三甲氧基苯甲酸(**207**)及甲醇。利血平酸与对甲苯磺酰氯作用保护羟基后再用锂铝氢还原得利血平醇(**208**),后者经硒粉脱氢得化合物 1-邻二甲苄基-7-羟基-β-咔啉(1-*o*-dimethylbenzyl-7-hydroxyl-β-carboline,**209**),表明一个酯基在 16 位,利血平酸脱氢则得 1-邻甲基苄基-7-羟基-β-咔啉(1-*o*-methylbenzyl-7-hydroxyl-β-carboline,**210**),表明甲氧基在吲哚环 7 位,这与利血平酸用 $KMnO_4$ 氧化所得有机酸(**211**)的结论相符,甲氧基位于吲哚环 7 位。利血平酸与碱熔融得 3-羟基-5-羧基苯甲酸(**212**),提示利血平的三甲氧基苯甲酸与 18 位羟基结合成酯,从而确定了利血平的平面结构[88]。利血平的结构表明有六个不对称碳,应有 32 对消旋体,利血平在许多条件下易于异构化,如在酸性条件下能转成 C-3 的差向异构体,因而得到利血平的一系列异构体:

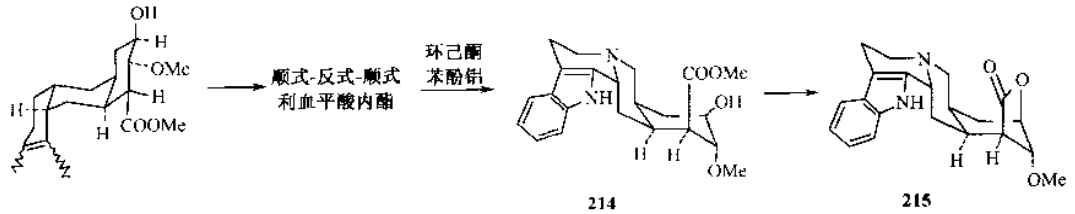


此系列化合物的18-脱氧化合物即天然的α-育亨宾(**188**)。



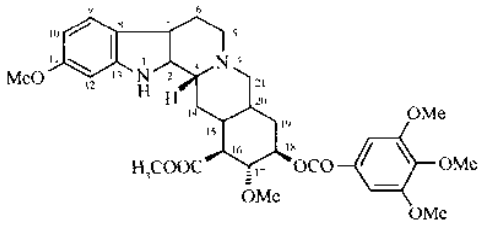
187

在酸性条件下异利血平酸内酯(**213**)能反转成利血平酸内酯(**215**)。虽然在正常情况下能维持顺式-反式-顺式的构象,但为了形成内酯环首先还是反转成反式-反式 顺式的构象(**214**)才更有利[89,90]。



214 **215**

利血平的^{13}C-NMR数据如下:

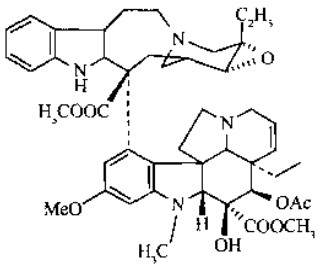


C	δ/ppm	C	δ/ppm	C	δ/ppm
2	130.2	10	108.7	17	77.8*
3	53.6	11	154.8	18	77.7*
5	51.1	12	94.0	19	29.6
6	16.7	13	136.1	20	33.8
7	107.7	14	24.1	21	48.8
8	121.9	15	32.2		
9	118.2	16	51.6		

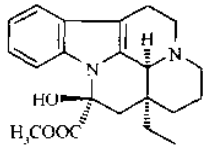
注:带"*"的化学位移值可以互换。

二、长春花生物碱类

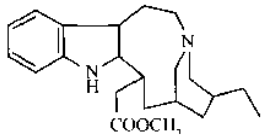
长春花是夹竹桃科植物 *Catharanthus roseus* (L.) G. Don 或 *Vinca rosea* L.,在加拿大民间曾用做治疗糖尿病,以后发现它有治疗白血病的作用。美国利里药厂 Svoboda 等首先从长春花全植物中分离得到长春碱(vinblastine,VLB)、长春新碱(vincristine,VCR)、柳诺新(leurosine)、柳诺西亭(leurosidine)等双分子吲哚生物碱,它们都具有抗白血病作用,但以长春新碱最佳,不良反应最小。此外,还有一些其他吲哚生物碱(单分子或双分子)从长春花属其他种如 *V. minor* 等或夹竹桃科其他植物如鸡骨常山(*Alstonia yunnanensis* Diels)等植物中分离得到。常见的长春花生物碱(vinca alcoloid)见表4-13。



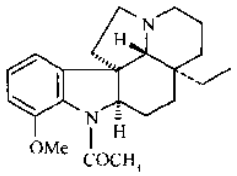
217



218



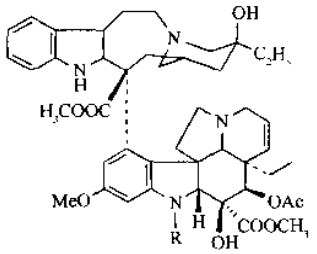
219



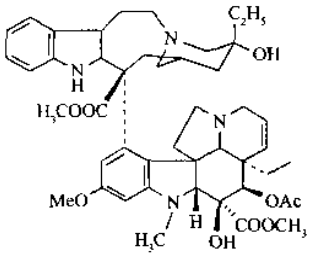
220

表 4-13 主要的长春花生物碱

生物碱	分子式	熔点/℃	$[\alpha]_D$
长春碱（vinblastine，182）	$C_{46}H_{58}O_9N_4$	211～216	+42°($CHCl_3$)
长春新碱（vincristine，183）	$C_{46}H_{56}O_{10}N_4$	218～222	+17°($CHCl_3$)
柳诺西亭（leurosidine，216）	$C_{46}H_{58}O_9N_4$	208～211	+55.8°($CHCl_3$)
柳诺新（leurosine，217）	$C_{46}H_{58}O_8N_4$	202～205	+72°($CHCl_3$)
长春胺（vincamine，218）	$C_{21}H_{26}O_3N_2$	232～233	+42°(py.)
泻花碱（catharanthine，219）	$C_{21}H_{24}O_2N_2$	126～128	+29.8°($CHCl_3$)
白坚木碱（aspidospermine，220）	$C_{22}H_{30}O_2N_2$	207～209	−99°(EtOH)
文朵灵（vindoline，221）	$C_{25}H_{32}O_6N_2$	164～165	−18°($CHCl_3$)
维尔朋胺（velbenamine，222）			



182 R=CH_3
183 R=CHO



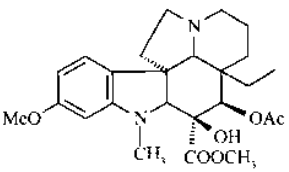
218

长春花在我国并不作为药用，主要为观赏植物，除栽培者外，海南岛等地区有野生，我国在 20 世纪 60 年代即开始研究长春花生物碱，一个较为简便的生产长春碱与长春新碱的方法已投入生产，具体方法可参阅本章末参考书目[2]，长春碱含量约为十万分之二，长春新碱含量更少，仅百万分之二。

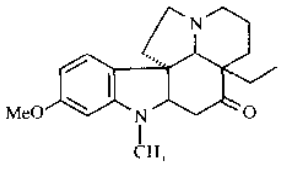
长春碱（VLB，**182**）由 vindoline 与 velbenamine 两个吲哚生物碱组成。长春新碱（VCR，**183**）与长春碱的区别仅在于以 *N*-CHO 取代长春碱的 *N*-CH_3，这个微小差别在疗效上却有很大区别。长春新碱剂量远比长春碱小（仅为长春碱的 1/10），疗效高，且不良反应小；其硫酸盐已普遍用于治疗白血病及其他癌症，并且是治疗癌症的各种联合用药方案的常用药之一。

长春碱与长春新碱都是弱碱性生物碱，两个碱性的氮的 pK_a' 分别为 5.4、7.4 及 5.0、7.4，其中之一能与碘甲烷成季铵化合物。其紫外光谱吸收 VLB 为 214 nm、259 nm；VCR 为 220 nm、255 nm、296 nm。

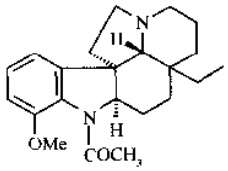
文朵灵(vindoline，**221**)$C_{25}H_{32}O_6N_2$，M^+ 456，紫外光谱吸收为 212 nm、250 nm、304 nm ($lg\varepsilon$ 4.49、3.75、3.5)，属二氢吲哚类生物碱，为弱碱，pK_a' 5.5 与 VLB 的一个 pK_a' 值相同，其碱性氮不能形成碘甲烷化合物，以酸处理得脱乙酰化合物，$C_{23}H_{30}O_5N_2$，以 $LiAlH_4$ 还原得醇 $C_{22}H_{30}O_4N_2$，乙酰化得双乙酰化合物，再根据**221** 的紫外光谱与甲氧基二氢吲哚相比及红外光谱 2820 cm^{-1}，证明有一个芳环甲氧基，则**221** 的六个氧证明分别以乙酰氧基、酯基、羟基及甲氧基形式存在。二氢文朵灵(**223**)的盐酸盐经热解可产生酮(**224**)，红外光谱吸收 1709 cm^{-1}；**223** 与 **224** 的紫外、红外光谱及主要质谱碎片均与 *N*-甲基去乙酰基白坚木碱(*N*-methyl desacethyl aspidosperinine，**225**)及白坚木碱(**220**)极其类似，其骨架应相同，而白坚木碱的结构业经 X 衍射及全合成证明[91, 92]。



223

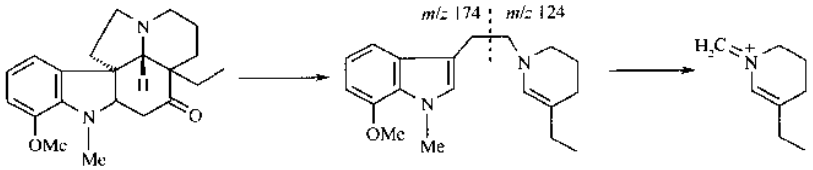


224



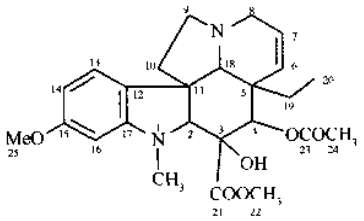
220

225 的质谱显示二个强碎片峰 m/z 298(M^+-28)、174 与 124；**223** 和 **224** 的质谱也同样有这些主要碎片 m/z 398、311、284、224 等，根据这些碎片推定了文朵灵的结构为**221**，其甲氧基位置则根据核磁共振氢谱芳香质子偶合情况而定。



225

Gorman 曾对文朵灵的 ^{1}H-NMR 质子信号做了解析与归属，见表 4-14[93]。

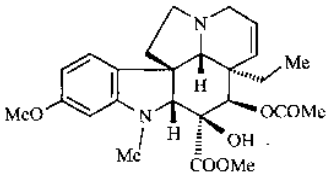


221

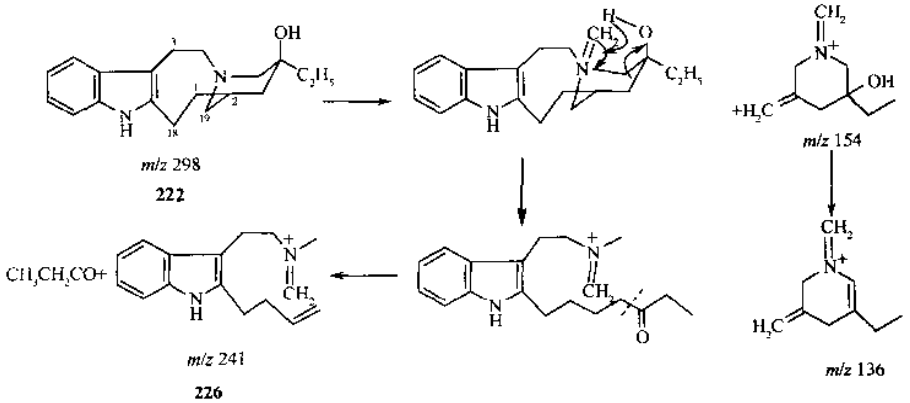
表 4-14 文朵灵(221)的 ^{1}H-NMR 谱($CDCl_3$)信号归属

编号	δ/ppm	编号	δ/ppm	编号	δ/ppm
2	3.75	13	6.91	22	3.80
4	5.43	14	6.30	24	2.07
6	5.23	16	6.08	25	3.80
7	5.88	18	2.65	OH	9.00
8	3.4	19	1.35	N—CH_3	2.68
9	2.1~3.0	20	0.48		

鉴于 VCR 碘甲烷化合物经 X 射线衍射确定了结构，则作为二氢吲哚部分的文朵灵的立体结构(**221**)与绝对构型也因之而一并确定[94]。

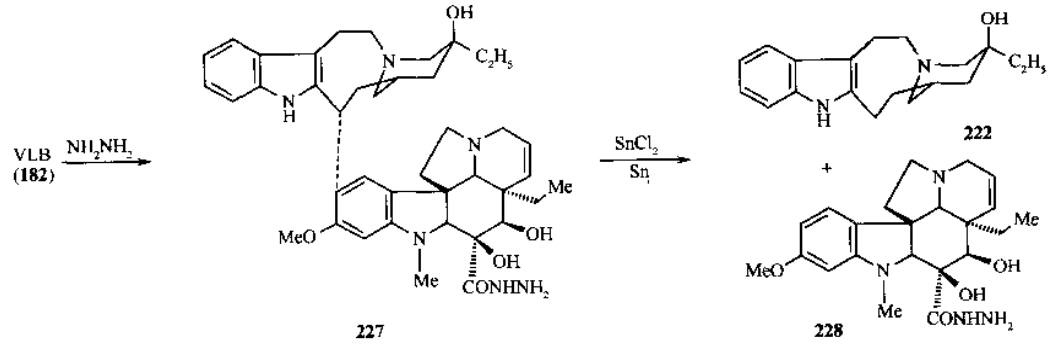


221

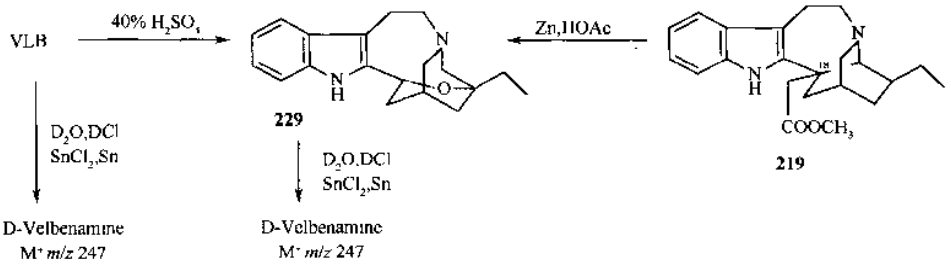


维尔朋胺(**222**)的结构是通过质谱裂解碎片解析而证明的[95]，除 M^+ 298 外，其主要碎片为 m/z 154 与 241，m/z 154 表明羟基在脂环部分，但不是 C-8 与 C-18 间，而氘代后碎片为 m/z M^+ 304、247、154，碎片 m/z 154 未被氘代，m/z 241 为分子失去 57 个质子即 C_3H_5O 的碎片，结构与**226** 相符。

长春碱 $C_{46}H_{58}O_9N_4$，M^+ 810.4219，紫外吸收 214 nm、259 nm(lgε 4.73、4.21)，在氯化锡($SnCl_2$)与锡存在下与稀盐酸作用裂解出维尔朋胺(**222**)。如将长春碱与无水肼回流加热 4h，则脱去羧甲酯基、乙酰基与甲氧基而生成一元酰肼(**227**)，如该化合物继续用上述条件裂解，即在 $SnCl_2$ 与 Sn 存在下与盐酸作用，则生成维尔朋胺(**222**)与去乙酰文朵灵酰肼(**228**)，后者可由文朵灵制备证明。



长春碱进一步与氘代盐酸(DCl)，重水(D_2O)作用(在 $SnCl_2$ + Sn 存在下)得氘代维尔朋胺，质谱分子离子峰 M^+ 247，比未氘代者 241 多 6 个质子，主要碎片 m/z 154 与 247，表明氘代质子分布在 4 个芳香质子与 C-8 或 C-18 上，因为 m/z 154 与氘代前的碎片相同。长春碱用 40% H_2SO_4 加热 2h 得化合物 $C_{21}H_{26}O_3N_2$ (**229**)，后者在 $SnCl_2$ + Sn 存在下再用 DCl、D_2O 作用，又得氘代维尔朋胺，而**229** 可用泻花碱(**219**)经 Zn + HOAc 还原制得，表明维尔朋胺的羧酸甲酯部分是由 C-18 位与文朵灵部分结合的[96]。



长春新碱 VCR (**183**)，$C_{46}H_{56}O_{10}N_4$，比长春碱 VLB 少两个氢多一个氧，其结构最后是用它的碘甲烷化合物经 X 单晶衍射证实。它的结构中 *N*-CHO 代替了 VLB 的 *N*-CH_3，^{1}H-NMR 谱中 VLB 的 *N*-CH_3 为 δ 2.73(3H, s)，VCR 的 *N*-CHO 为 δ 8.90(1H, s)。

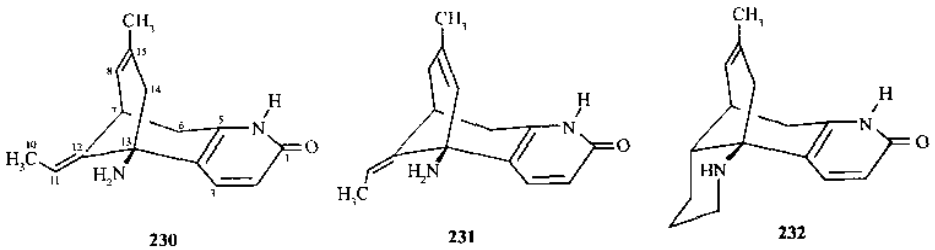
鉴于长春新碱在治疗白血病与癌肿的特殊疗效，长春新碱与长春碱结构上的区别仅为 VLB 的 N-CH_3 转为 *N*-CHO，且长春花植物中 VLB 的含量远比 VCR 高(10 倍左右)，因此科学家们研究了各种氧化 VLB 至 VCR 的方法，较优越的方法是在低温(－60℃)下，用铬酸氧化[97－104]，生产上常在分离长春碱以前即将总碱部位先行氧化，然后进行分离即可大大提高长春新碱的收率。

第十节 吡啶酮类(pyridone)生物碱——石杉碱

1. 石杉碱甲(huperzine A，230)和石杉碱乙(huperzine B，232)

从浙江产的石松属(*Lycopodiaceae*)植物蛇足石杉[*Huperzia serrata* (Thunb) Trev.]中分离得到了以石杉碱甲为代表的一系列吡啶酮类乙酰胆碱酯酶抑制剂生物碱[105]。石杉碱甲(huperzine A，**209**)，$C_{15}H_{18}ON_2$，熔点 230℃，$[\alpha]_D$ －150.4°(*c* 0.5，MeOH)，紫外光谱最大吸收在 231 nm、313 nm(lgε 4.0、3.89)，红外光谱所示 3180 cm^{-1}、1650 cm^{-1}、1550 cm^{-1}及^{1}H-NMR 显示分子中所含吡啶酮母核结构。其结构的最后推定是通过与已知的 Selagine (**231**)的核磁波谱数据比较及 NOE 差谱分析得到。石杉碱乙(huperzine B)，$C_{16}H_{20}ON_2$，熔点 270～271℃，$[\alpha]_D$ －54.2°(*c* 0.2，MeOH)，紫外光谱最大吸收在 231 nm、312 nm (lgε 3.95、3.85)，红外光谱吸收在 3100 cm、1670 cm、1620 cm、1610 cm、1560 cm。石杉碱乙的 C_{12}、C_{13}位形成了另一个哌啶环。

由于石杉碱类化合物显著的生理活性，Ayer 等重新验证了 Selagine 的结构，从瑞典产的 *Lycopodium selago* 中分离得到的 Selagine 与 Selagine 原始样品、石杉碱甲进行了对照，结果发现三个均为同一化合物，而原先对 Selagine 的结构推导有误[106]。石杉碱甲和石杉碱乙的^{1}H-NMR 和^{13}C-NMR 数据如表 4-16 所示。



230 **231** **232**

表 4-16 石杉碱甲和石杉碱乙的^{1}H-NMR 和^{13}C-NMR 数据[96]

编号	^{1}H-NMR δ/ppm				^{13}C-NMR δ/ppm	
	230 (100 MHz)		**232** (400 MHz)		**230**	**232**
	δ/ppm	J/Hz	δ/ppm	J/Hz	(22.63MHz)	(25.18MHz)
1					165.52 (s)	165.39 (s)
2	6.38, d	9	6.43, d	9	116.97 (d)	117.90 (d)
3	7.84, d	9	7.68, d	9	140.25 (d)	140.37 (d)
4					122.95 (s)	117.90 (s)
5					142.59 (s)	143.27 (s)

续表

编号	^{1}H-NMR δ/ppm				^{13}C-NMR δ/ppm	
	230 (100 MHz)		**232** (400 MHz)		**230**	**232**
	δ/ppm	J/Hz	δ/ppm	J/Hz	(22.63MHz)	(25.18MHz)
6	2.72, 2H,	16, 3, 0	α, 2.85, dd;	18, 5	35.24 (t)	29.45 (t)
			β, 2.43, d	18, 0		
7	3.56, m		2.34, ddd	4, 5, 5	32.95 (d)	34.59 (d)
8	5.38, d	5	5.43, bd	5	124.36 (d)	126.12 (d)
9			α, 2.29, ddd	14, 13, 2		48.03 (t)
			β, 2.74, ddd	14, 3, 2		
10	1.62, d, 3H	7	α, 1.54[1)]		12.31 (q)	25.34[2)](t)
			β, 1.43, ddddd	13,13,13,3,3		
11	5.46, q	7	α, 1.22, dddd	4, 13, 13, 13	111.23 (d)	28.13[2)](t)
			β, 1.54[2)]			
12			1.67, ddd	13, 4, 4	143.30 (s)	40.70 (d)
13					54.35 (s)	53.22 (s)
14	2.12, s, 2H		H_{endo}, 1.83, d	17	49.25 (t)	41.67 (t)
			H_{exo}, 2.02, d	17		
15					134.09 (s)	132.23 (s)
16	1.46, s, 3H		1.59, s, 3H		22.57 (q)	22.68 (q)
NH (吡啶酮环上)	13.20, bs		13.20, bs			

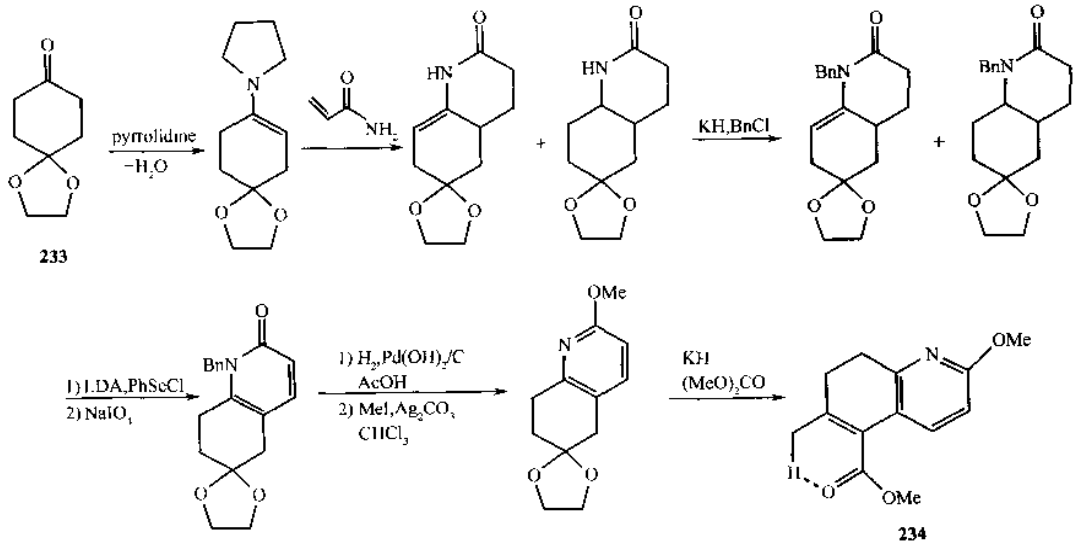
1) 重叠信号。

2) 可交换。

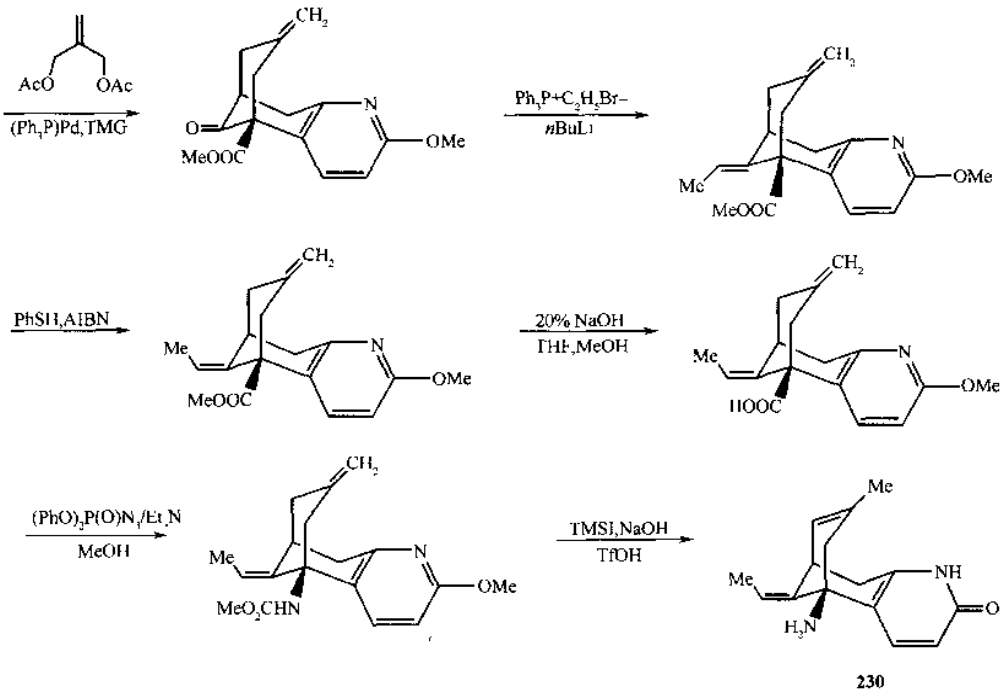
注:$CDCl_3$ 中测定, TMS 为内标物。

2. 石杉碱甲的全合成

由于石杉碱甲的显著生理活性,目前已有一些该化合物的全合成报道[107]。Kozikovski[108]从单保护的环己二酮**233** 开始,通过关键中间体 β-烯醇酯**234**, 以较短的合成路线完成了石杉碱甲的全合成。目前石杉碱甲立体选择性合成的对映体过剩值已达到 90%[109]。有关石杉碱类化合物的结构改造在第十八章"天然产物结构修饰"中有专门介绍。



233 **234**



230

3. 石杉碱的生理活性

石杉碱甲是迄今为止天然产物中发现的最强效的乙酰胆碱酯酶抑制剂，动物试验及临床上都具有促智及改善多种实验性记忆障碍的作用，同时药理试验证实其具有保护神经细胞对抗 β-淀粉样蛋白产生的毒性及其诱导的细胞凋亡作用，对于促智、改善记忆和老年人行为能力方面均有疗效。石杉碱甲片剂在 1996 年获得了我国西药新药证书，石杉碱甲胶囊等其他剂型正在进行申请临床研究，是具有很大潜力的治疗老年性痴呆症的天然药物[110~112]。

表 4-17 显示了体外酶活性抑制模型中，石杉碱甲（**230**）比目前国际市场上治疗老年痴呆症的两个新药他克林（Tacrine）和 Donepezil 在产生活性作用的乙酰胆碱酯酶（AChE）抑制与产生外周神经系统毒副作用的丁酰胆碱酯酶（BuChE）抑制方面显示了更高的选择性。石杉碱甲的乙酰胆碱酯酶抑制作用也大大高于石杉碱乙。对石杉碱甲进行结构改造得到的石杉碱甲 Shiff 碱衍生物（希普林 ZT-1，结构见二十章）对胆碱酯酶抑制的选择性更高。

表 4-17 石杉碱甲及其他胆碱酯酶抑制剂选择性作用比较

	抑制酶活力 50% 所需浓度/(nmol/L)		IC_{50}比率
	丁酰胆碱酯酶（BuChE）（大鼠血清）	乙酰胆碱酯酶（AChE）（大鼠大脑皮层匀浆）	（AChE）
希普林(ZT-1)	116 333.3 ± 6984.1	63.6 ± 0.5	1829
石杉碱甲(**230**)	54 500.0 ± 838.6	56.2 ± 2.6	970
Donepezil	7663.3 ± 346.4	13.8 ± 0.7	555
它科林(Tacrine)	58.0 ± 1.2	82.4 ± 3.5	0.7

参 考 书 目

林启寿. 中草药成分化学. 北京：科学出版社，1977

徐任生，陈仲良. 中草药有效成分的提取和分离. 第二版. 上海：上海科学出版社，1983

Manske R H F, Brossi A, Cordell G A The Alkaloids, New York: Academic Press, 1950－2001
Pelletier S W. Chemical & Biological Perspectives. New York: now Pergamon, 1983－2001
徐任生. 天然产物化学. 北京: 科学出版社, 1993
姚新生. 天然药物化学. 北京: 人民卫生出版社, 2001
K. 霍斯泰特曼, A. 马斯顿, M. 霍斯泰特曼. 制备色谱技术. 赵维民等译 北京: 科学出版社, 2000

参 考 文 献

[1] Sertürner F W. Ann Chim Phs, 1817, (ⅱ) 5:21
[2] Laurent. Ann Chim Phys 1817 (ⅲ), 19:359
[3] Glasby J S. J Org Chem, 1976, 41:996
[4] Wheeler D M S et al. J Am Chem Soc, 1967, 89:4494
[5] Радионов В М. и Введенский Жури хим пром, 1930, 7:11
[6] Knorr L et al. Chem Ber, 1907, 40:4883
[7] Hsu Jen Sheng (徐任生) et al. Scientia Sinica, 1964, 13:2016
[8] Wagner H et al. Tetrahedron, 1984, 40:2133
[9] Boit N G. Ergebnisse der Alkaloid-Chemie. Berlin: Akademie Verlag, 1961, 574
[10] Pelletier. Ann Chim Phys, 1820, 15:291
[11] Pelletier. Ann Chim Phys, 1823, 24:169
[12] Miller W et al Chem Ber, 1894, 27:1279
[13] Königs W. Chem Ber, 1894, 27:900
[14] Cahn R S et al. Angew Chem Intern Ed Eng, 1966, 5:385
[15] Prelog V et al. Helv Chim Acta, 1950, 33:2021
[16] King H et al. J Chem Soc, 1922, 121:2577
[17] Moreland C G et al. J Org Chem, 1974, 39:2413
[18] Wood ward R B et al. J Am Chem Soc, 1944, 66:849
[19] Wood ward R B et al J Am Chem Soc, 1945, 67:860
[20] Battersby A R et al. J Chem Comm, 1971, 30:31
[21] 徐任生等. 化学学报, 1977, 35:193
[22] 朱美平等. 科学通报, 1978, 23:761
[23] Chou T Q(赵承嘏) et al. J Am Chem Soc, 1948, 70:1975
[24] 赵承嘏等. 中国科学, 1951, 2:455
[25] Hotchings B L et al J Org Chem, 1952, 17:19
[26] Baker B R et al. J Org Chem, 1953, 18:178
[27] Baker B R et al. J Org Chem, 1955, 20:118, 136
[28] 邓永红等. 中国药学(英文版), 2210, 9:116
[29] Li L Q (李良泉) et al. Scientia Sinica, 1979, 22:1220
[30] 梁晓天等. 药学学报, 1963, 10:225
[31] 梁晓天等 Scientia Sinica, 1963, 12:1525
[32] Boit H G. Ergebnisse der Alkaloid-Chemie. Berlin: Akademie Verlag, 1961
[33] Robinson R. J Chem Soc, 1957, 111:762
[34] Muller E. Ber, 1918, 51:252
[35] Lounasmaa M et al. J Org Chem, 1975, 40:3694
[36] 谢晶曦等. 科学通报, 1975, 20:52
[37] 中国医学科学院药物研究所及青海医学科学研究所. 化学学报, 1976, 34:40
[38] 谢晶曦等. 中国医学科学院学报, 1982, 4:92
[39] 中国医学科学院药物研究所等. 化学学报, 1976, 34:39
[40] Schild et al. Ber Deutsch Chem Ges, 1936, 69:74
[41] Götz M et al. Tetrahedron Letters, 1961, 20:707
[42] Götz M et al. Tetrahedron, 1968, 24:2631
[43] Edwards O E. Can J Chem, 1962, 40:455
[44] 朱任宏等. 化学学报, 1955, 21:173
[45] 郭伽等. 化学学报, 1981, 36(4):865
[46] Cheng D L et al. Journal of Natural Products, 1988, 51(2):202

[47] Xu R S (徐任生) et al. Tetrahedron, 1982, 38: 2667
[48] 徐任生等. 化学通报, 1985, 12: 1
[49] 徐任生等. 结构化学, 1986, 5: 97
[50] 林文翰等. 化学学报, 1990, 48: 811
[51] 林文翰等. 化学学报, 1991, 49: 927
[52] 林文翰等. 化学学报, 1991, 49: 1034
[53] 林文翰等. 有机化学, 1991, 11: 500
[54] Lin W H et al. Journal of Crystallographic and Spectroscopic Research, 1991, 21(2): 189
[55] Lin W H et al. Chin Chem Lett, 1991, 2: 369
[56] Lin W H et al. J of Nat Prod, 1992, 55(5): 571
[57] Lin W H et al. Phytochemistry, 1994, 36(5): 1333
[58] 林文翰 中国科学院上海药物研究所博士论文, 1990
[59] Yang Ye et al. Chin Chem Lett, 1992, 3(7): 511
[60] Ye Y et al. J Nat Prod, 1994, 57: 665
[61] Ye Y et al. Phytochemistry, 1994, 37(4): 1201
[62] Ye Y et al. Phytochemistry, 1994, 37(4): 1205
[63] 叶阳. 中国科学院上海药物研究所博士论文, 1992
[64] Qin G W et al. Med Res Rev, 1998, 18: 375
[65] Xu R S. Studies in Natural Products Chemistry, Atta-ur-Rahman, Amsteraam: Elsevier Sciences B. V., 1989, 21: 729
[66] Pilli R A et al. Nat Prod Rep, 2000, 17: 117
[67] Sakata K et al. Agri Bio Chem, 1978, 42: 457
[68] 林文翰等. 中国科学院上海有机化学研究所资料
[69] 柯昌强. 中国科学院上海药物研究所硕士学位论文, 2001
[70] 林文翰等. 有机化学, 1991, 11: 500
[71] Izuka H et al. J Chem Soc (Chem Comm). 1973: 125
[72] 叶阳等. Planta Medica, 待发表
[73] Hiroshi Irie et al. Chem Pharm Bull, 1973, 21(2): 451
[74] Suzuki K. J Pharm Soc Japan, 1931, 51: 419
[75] Koyama H et al. J Chem Soc (B), 1970, 1330
[76] Hiroshi Irie et al. Chemical Communications, 1970, 1066
[77] 唐春萍等. Phytochemistry, 待发表
[78] Suratwadee Jiwajinda et al. Phytochemistry, 2001, 56(7): 693
[79] Toshikazu Sekine et al. Chem Pharm Bull, 1994, 42(6): 1360
[80] Toshikazu Sekine et al. J Chem Soc Perkin Trans, 1995, 4: 391
[81] Shojiro Uyeo et al. Chem Pharm Bull, 1967, 15(6): 768
[82] Muller J M et al. Exper, 1952, 8: 388
[83] Lucas R A. Progress in medical Chemistry. New York: Academic Press, 3: 146
[84] 姜达衢等. 药学学报, 1963, 10: 614
[85] 魏均娴等. 药学学报, 1965, 12: 409
[86] Moza B K. Indian J Pharm, 1961, 23: 104
[87] Atol C K. Indian J Pharm, 1959, 21: 339
[88] Neuss N et al. J Am Chem Soc, 1959, 81: 1474
[89] Aldrich P E et al. J Am Chem Soc, 1959, 81: 3805
[90] Rosen W E et al. J Am Chem Soc, 1961, 83: 2481
[91] Mills J F D et al. Tetr Lett, 1959, 11: 1
[92] Stork G et al. J Am Chem Soc, 1963, 85: 2872
[93] Gormann M J. J Am Chem Soc, 1992, 84: 1085
[94] Moncrief J W et al. J Am Chem Soc, 1965, 87: 4963
[95] Baemann K. Lloydia, 1964, 27: 397
[96] Neuss N et al. J Am Chem Soc, 1964, 86: 440
[97] Jovanovics K et al. Ger Patent, 259447
[98] Jovanovics K et al. C A, 1974, 81: 91780
[99] Jovanovics K et al. US Patent, 3899493

[100] Jovanovics K et al. C A, 1975, 83: 179360
[101] Jovanovics K et al. Can Patent, 989829
[102] Jovanovics K et al. C A, 1976, 85: 177762
[103] Richter G. belg patent, 823560
[104] Richter G. C A, 1976, 84: 59835
[105] Liu J S et al. Can J Chem, 1986, 64: 837
[106] Ayer W A et al. Can J Chem, 1989, 67: 1538
[107] Bai D L. Pure & Applied Chemistry, 1993, 61: 1103
[108] Kozikowski A et al. J Org Chem, 1991, 56: 4637
[109] He X et al. Tetrahedron: Asymmetry, 2001, 12(23): 3213
[110] Wang R et al. Neuro Report, 2001, 12(12): 2629
[111] Ou L et al. European J of Pharmacology, 2001, 433: 151
[112] Zhou J et al. Neuro Report, 2001, 12: 2073
[113] William D R et al. Organic Letters, 2001, 3: 2721
[114] Mungkornasawakul P et al. J Nat Prod, 2003, 66: 980
[115] Dien P et al. Phytochemistry, 待发表

（叶 阳，徐任生）

第五章　单　　萜

萜类化合物的基本结构是由不同个数的异戊二烯首尾相连构成，根据异戊二烯规则(isoprene rule)，其中以两个异戊二烯构成的称为单萜，单萜化合物存在于挥发油类(volatile oil)，挥发油又称精油(essential oil)，是一类具有挥发性可随水蒸气蒸馏出来的油状液体，大部分具有香气，如薄荷油、丁香油等。含挥发油的中草药非常多，也多具芳香气，尤以唇形科(薄荷、紫苏、藿香等)、伞形科(茴香、当归、芫荽、白芷、川芎等)、菊科(艾叶、茵陈蒿、苍术、白术、木香等)、芸香科(橙、橘、花椒等)、樟科(樟、肉桂等)、姜科(生姜、姜黄、郁金等)等科更为丰富。含挥发油的中草药或提取出的挥发油大多具有发汗、理气、止痛、抑菌、矫味等作用，我国资源十分丰富。

单萜化合物在医药工业、香料工业、昆虫信息素及昆虫驱避剂等方面都有广泛的用途。例如，樟脑是最早从中草药中得到的有效成分之一，至今仍在临床使用，薄荷用做芳香剂、驱风药在医药工业和食品工业中应用广泛，斑蝥素具有抗肿瘤作用，昆虫信息素及昆虫驱避剂中有许多化合物是单萜化合物，已日益引起人们的重视。有关单萜的专著和综述[1~6]已有很多。

第一节　单萜化合物的提取与分离

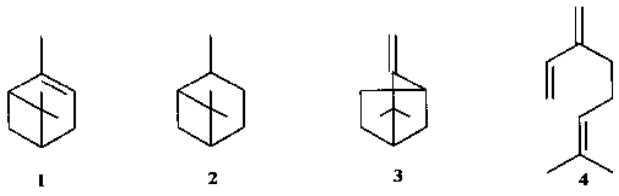
一、挥发油的一般性质

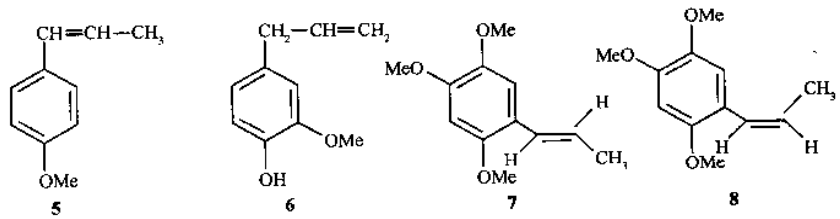
1. 挥发油的化学组成

挥发油类成分在植物界分布很广，含有挥发油的药材也很多，在我国野生与栽培的芳香药用植物有数百种之多。挥发油为多种类型化合物的混合物，所含化学成分都比较复杂，由十几种到一百多种成分组成，其中有脂肪族化合物、芳香族化合物，更多为萜类衍生物。

1) 脂肪族化合物有烃、醇、醛、酮、酯等。广泛存在于植物特别是水果中，如正丙醇、辛醛、乙酸乙酯、甲酸、辛酸乙酯等。

2) 萜类化合物。挥发油中的萜类主要为单萜与倍半萜。多萜类在挥发油中并不存在，而为某些树脂、色素、橡胶等的成分。挥发油中的萜类化合物可以含氧或不含氧。对于大多数挥发油来说不含氧的烃类成分虽占大量，但多数无香气因而不是重要成分，如 α-蒎烯(1)、β-蒎烯(2)、樟烯(3)、月桂烯(4)等。含氧衍生物有醇、醛、酮、醚、酸、酚、酯等，含量虽较少但大多具有优异芳香气味，是挥发油中的重要成分，如芳樟醇、香茅醇、薄荷醇、香茅醛、柠檬醛、1,8-桉树脑等。





3) 芳香化合物。挥发油中的芳香化合物，除一般的芳香含氧衍生物如苯乙醇、水杨酸、水杨酸甲酯等以

外，有的是萜类衍生物，如对聚伞花素（*p*-cymene）、百里香酚（thymol）等。除此之外，大多数为苯丙素的衍生物，其生源可能是通过莽草酸（shikimic acid）途径转化而来，它们多是具有丙烷基的苯酚化合物及其酯类。例如，茴香脑（anethole，**5**）为八角茴香油及茴香油中的主要成分，丁香酚（eugenol，**6**）为丁香油中的主成分，α-细辛脑（α-asarone，**7**）、β-细辛脑（β-asarone，**8**）为菖蒲及石菖蒲的主成分。

2．挥发油的通性

1）大多数挥发油无色或淡黄色，均具特殊气（多为香气）与辛辣味，一般在室温下可挥发。

2）极大多数挥发油比水轻，仅少数挥发油比水重，如丁香油、桂皮油等，与水的相对密度比一般在0.850 ～ 1.180之间。

3）挥发油难溶于水，能完全溶解于无水乙醇、乙醚、氯仿、脂肪油中。在各种不同浓度的含水乙醇中可溶解一定量，乙醇浓度越小，挥发油溶解的量也越少。挥发油在水中能少量溶解而使水溶液具该挥发油特有的香气，医药上常利用这一性质来制备芳香水与注射剂，如薄荷水、鱼腥草注射液、柴胡注射液等。

4）各种挥发油均具一定的旋旋光性与折射率，折射率是挥发油质量鉴定的重要依据，一般挥发油的折射率都在1.450～1.560之间。

5）挥发油是由多种化学成分组成的混合物，故多数无确定的沸点与凝固点。

6）在低温时，挥发油中常可有固体物质（为油的组成之一）析出，如薄荷油中析出薄荷醇、桂皮油中析出桂皮醛、樟油中析出樟脑等。

二、单萜化合物的提取

绝大多数的单萜化合物均存在于挥发油之中，挥发油的提取方法可分为如下几种：

1．蒸馏法

挥发油与水不相混溶，在加热后两者蒸气压的总和与大气压相等时，溶液即开始沸腾，继续加热则挥发油可随水蒸气蒸馏出来。

蒸馏法是从中药材中提取挥发油最常用的方法。将原料粉碎后，放入水中浸泡，然后采用直接蒸馏或水蒸气蒸馏法将挥发油蒸馏出。前者是将中药与水共煮沸，挥发油随蒸气一并馏出，此法虽简单，但受热温度较高，有可能使挥发油的某些成分发生分解，同时因过热还可能使中药焦化，影响挥发油质量。水蒸气蒸馏法是将中药预先加水浸泡，然后通入水蒸气，使挥发油随导入的蒸气一并馏出。此法由于中药材未直接与加热器接触，可避免过热或焦化，但设备要复杂一些。

上述方法得到的蒸出液均因油水共存，形成乳浊液，所以常采用盐析法促使挥发油从水中分出，然后用分液漏斗或用低沸点有机溶剂萃取获得挥发油。

2．溶剂提取法

提取挥发油只能用石油醚或乙醚等低沸点有机溶剂，在室温冷浸渗漉或连续回流浸出，蒸去溶剂即得精油。这个方法具有得率高的优点，而且不会像水蒸气蒸馏那样出现某些精油在提取过程中分解变质或者水溶性成分不易分得。

最近几年来，应用二氧化碳作为提取溶剂的方法越来越引起人们的兴趣，整个提取过程被称为二氧化碳超临界提取（super-critical carbon dioxide extraction）。但是，实际上所采用的压力往往低于临界压力，提取介质处于亚临界状态，由于所采用的压力需使二氧化碳在常温下液化，所用设备价格昂贵，因此提取成本较高。此方法的最大优点是二氧化碳很容易除去，无需考虑溶剂残留。

3．压榨法

压榨法或称冷压法是三种提取方法中最简单的一种，是通过物理挤压的方法来得到精油，用该法获得的精油又称压榨油。

含挥发油量较高的材料，如鲜橘皮、柠檬皮等，可用机械压榨的方法把挥发油从植物组织中挤压出来。此法是在常温下进行，不会引起成分变化，且能保持新鲜植物的芳香气味，但所得产品不纯，可能含有水分、黏液质及细胞组织等杂质，因而常呈浑浊状态。获得含细胞及细胞液的粗精油，再经离心或过滤，获得精油。工业生产上的柑橘类精油大都通过此方法获得。同时这一方法很难将材料中所有的挥发油全部压取出来，所以压榨后的残渣再进行水蒸气蒸馏，使残留挥发油完全提出。

在香料工业生产上，还有其他提取精油的方法，如吸收法，像茉莉、晚香玉等花，极不耐热，可将花洒在涂有脂肪的板上，让精油吸入脂肪，然后再从脂肪中提取精油。此外，还有脂肪温浸等方法。

三、挥发油成分的分离纯化方法

经蒸馏法、溶剂法或压榨法得到的挥发油都是混合物，要想得到单一的成分必须进一步分离纯化。目前常用的分离法有分馏法、化学分离法和层析法。实际工作中往往几种方法配合使用才能达到分离的目的。

1. 分馏法

挥发油中由于成分类别不同，沸点差异较大。组成萜类成分的各族碳原子一般相差5个，加上双键数目和含氧官能团的不同，各成分之间的沸点有一定的差距，对于各萜类成分的沸点差异具有一定的规律性，在单萜中，沸点随着双键的减少而降低，三烯＞二烯＞一烯；在含氧单萜中，沸点随官能团极性的增加而升高，醚＜酮＜醛＜醇＜酸。由于相对分子质量增大，酯的沸点比相应醇的沸点高。链状含氧单萜类化合物的沸点增高顺序为：双氢月桂烯＜柠檬醛＜香橙醇＜香叶醇(即牻牛儿醇)。含氧倍半萜的沸点更高。挥发油中某些成分在沸点温度下往往被破坏，所以通常采用减压分馏法进行分离。对于未知成分则要预先测试沸程再进行分馏。

2. 化学分离法

化学分离法是根据挥发油中各组分的结构或官能团不同，采用化学方法进行处理，使各组分得到分离的方法。

(1) 碱性成分的分离

分离挥发油中的碱性成分时可将挥发油溶入乙醚中，加1%盐酸或硫酸萃取，分取酸水层后经碱化再用乙醚萃取，蒸去乙醚即得碱性成分。

(2) 酸、酚性物质的分离

分离挥发油中酸性成分时，可先用5%碳酸氢钠直接进行萃取，酸性成分形成钠盐而溶于碱水层中，分出碱液后加稀酸酸化，再用乙醚振摇萃取，蒸去乙醚，可分得酸性成分。

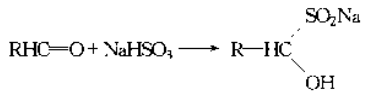
除去酸性物质后的挥发油，再以2%氢氧化钠或氢氧化钾萃取，碱溶液酸化后，用乙醚萃取，蒸去乙醚分得酚性物质或其他弱酸性成分。

(3) 羰基化合物的分离

挥发油中的醛、酮类化合物与多数羰基试剂形成加成物，如缩氨脲、肟、苯腙、Girard 腙、亚硫酸氢钠加成物等进行分离最常用的是亚硫酸氢钠和 Girard 试剂，它们能使亲脂性的羰基化合物转变为亲水性的加成物而加以分离。亚硫酸氢钠只能与醛和部分酮形成加成物，而 Girard 试剂则对所有的羰基化合物都适用。

① 亚硫酸氢钠分离法

在提出酸性成分后的挥发油乙醚溶液中加入30%的亚硫酸氢钠溶液，在低温下短时间振摇提取，一般即有结晶加成物析出或生成的加成物溶于水，与其他精油分开，分离后再加酸或碱溶液处理进行分解，即获得原来的羰基化合物。此法应注意操作条件，提取时间过长或温度过高，有使亚硫酸氢钠加成到双键的可能，形成不可逆的双键加成物。其反应为



② Girard 试剂分离法

Girard 试剂是分子内带有酰肼(hydrazide)及季铵基团试剂的总称，常用的有 Girard 试剂 T 和 Girard 试剂 P，它们的酰肼基团能与羰基反应，生成 Girard 腙。去除酸、酚性成分的挥发油中性母液，加入 Girard 试剂的乙醇液和 10% 的乙酸以促进反应的进行，加热回流 1h 后，生成能溶于水的衍生物，使含羰基化合物转溶于水层，加水稀释，再以乙醚除去不含羰基的精油后，分出水层加酸(如盐酸)酸化，再用乙醚提取，蒸去乙醚后复得羰基化合物。

(4) 醇的分离

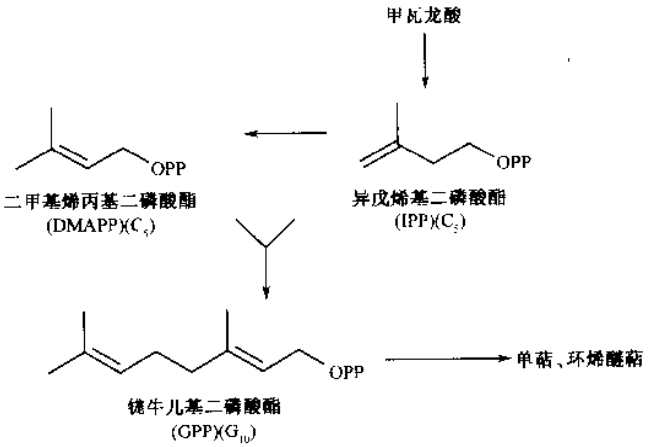
常用的方法是以过量的邻苯二甲酸酐和丙二酸酰氯等试剂反应生成相应的酸性酯转溶于碳酸钠溶液中，乙醚提取多次后的碳酸钠溶液用浓盐酸酸化，以乙醚提取单酯，蒸去乙醚，残留物经皂化，以乙醚萃取，回收原来的醇类化合物。伯醇容易形成酯，仲醇反应较慢，而叔醇则较难反应。

上述挥发油成分初步纯化方法中的有些操作过程需要酸、碱处理，因此对酸、碱敏感的化合物不能应用，所以在研究挥发油的过程中，一般除去酸、酚性化合物后，往往采用重结晶、真空精馏、氧化铝或硅胶层析等方法，能将挥发油中大部分成分提纯。

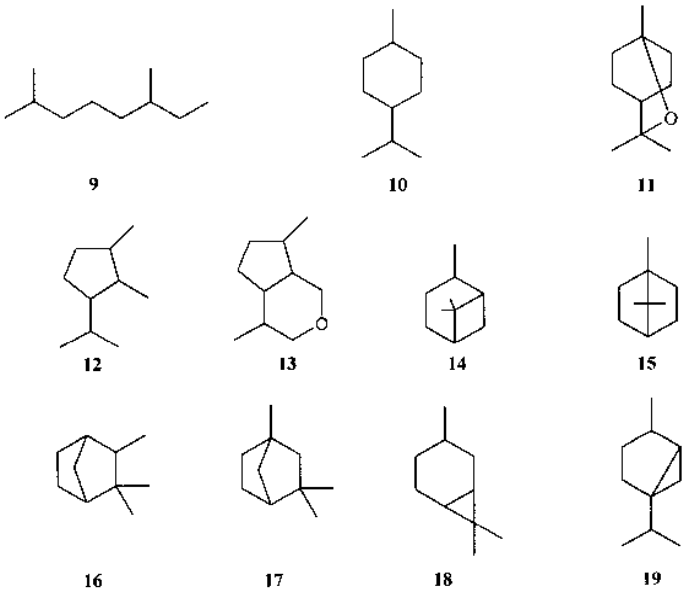
第二节 单萜化合物的分类与分析方法

一、单萜化合物的基本类型

单萜化合物是由甲瓦龙酸(mevalonic acid)经磷酸化，再经脱羧及脱水生成异戊烯基二磷酸酯(isopentenyl diphosphate IPP)，IPP 进一步异构化为二甲基烯丙基二磷酸酯(dimethylallyl diphosphate DMAPP)，这两种活化的 C_5 单元被称为“活性异戊二烯”，IPP 和 DMAPP 通过反式 1,2-加成和反式 1,2-消除，以“头-尾”形式相连接构成牻牛儿基二磷酸酯(geranyl diphosphate GPP)，再经生物体内转化形成如下各种单萜化合物基本母核：



无环单萜类：2,6-二甲基辛烷型(2,6-dimethyloctane，**9**)；单环单萜类：薄荷烷型(menthane，**10**)、桉树脑型(cineole，**11**)、虹彩烷(iridane，**12**)、环烯醚萜(iridoid，**13**)；双环单萜类：蒎烷型(pinane，**14**)、樟烷型(camphane，**15**)及异樟烷型(isocamphane，**16**)、葑烷型(fenchane，**17**)、蒈烷型(carane，**18**)、崖柏烷(thujane，**19**)等。



虽然单萜化合物的基本骨架相对简单，但是仍有很多天然单萜化合物的骨架结构，尽管是从异戊二烯 C_5 单元衍生而来，却不符合首尾相连的异戊二烯规则，这类化合物被归类为不规则单萜化合物（irregular monoterpene）。

二、精油的成分分析与含量测定

从事中草药的精油成分研究之前，往往要测定该植物中具有的含量，主要原理是用中草药中所含挥发油能随水蒸气共同蒸馏出来收集在标准测定器中的量计算其百分含量。常用的方法与仪器在中国药典中均有规定。

色谱分离方法是精油质量控制（QC）及其成分分析的常用手段。香料和精油工业是应用气相色谱（GC）技术的先驱，气相色谱至今仍是这个领域中分析化学家的“左右臂”。几乎所有现今流行的香味成分都能用 GC 的某种应用形式进行分析。GC 除了可以广泛应用之外，它还是快速、灵敏的分离方法，并且具有令人满意的定量准确度和高分辨能力。

气相色谱-质谱法（GC-MS）是越来越普遍采用的分析技术，高分辨毛细管 GC、保留指数和与计算机资料数据相匹配的质谱图的联合使用，在精油化学及许多其他有机分析领域已成为广泛采用的鉴定标准。由于人们广泛应用计算机控制仪表并对所能获得的非常大量的资料数据进行处理，从而决定了 GC-MS 的成功。

表 5-1 和图 5-1 是采用 GC-MS 技术分析出野菊 *Dendranthema indicum* Des monl. 挥发油成分的例子[7]。

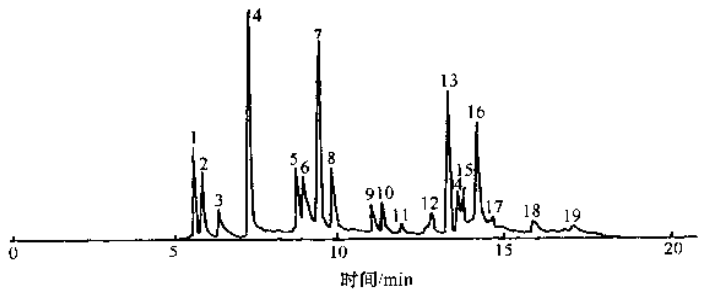


图 5-1 野菊挥发油的气相色谱图

表 5-1 野菊挥发油的化学组成及相对含量

色谱号	质谱检出物	分子式	相对分子质量	相对含量/%
1	β-松油烯	$C_{10}H_{16}$	136	5.22
2	樟烯	$C_{10}H_{16}$	136	4.86
3	β-蒎烯	$C_{10}H_{16}$	136	3.16
4	1,8-桉叶素	$C_{10}H_{18}O$	154	25.68
5	α-侧柏酮	$C_{10}H_{16}O$	152	4.13
6	异侧柏酮	$C_{10}H_{16}O$	152	3.28
7	樟脑	$C_{10}H_{16}O$	152	18.21
8	冰片	$C_{10}H_{18}O$	154	4.45
9	藏茴香酮	$C_{10}H_{16}O$	152	2.02
10	乙酸冰片酯	$C_{12}H_{20}O_2$	196	2.23
11	未检出		189	0.24
12	β-榄香烯	$C_{15}H_{24}$	204	1.42
13	反丁香烯	$C_{15}H_{24}$	204	12.02
14	β-雪子油烯	$C_{15}H_{24}$	204	1.75
15	蛇麻烯	$C_{15}H_{24}$	204	1.22
16	γ-杜松烯	$C_{15}H_{24}$	204	8.68
17	δ-杜松烯	$C_{15}H_{24}$	204	0.62
18	苦橙油醇	$C_{15}H_{26}O$	222	0.81

从野菊精油中共分析出 18 种化学成分，除一种未检索出名称外，其余 17 种都属于萜类及其衍生物，其中包括 9 种萜烯、4 种萜酮、3 种萜醇和 1 种萜酯。

此外，还有气相色谱-FT 红外（GC-FTIR）技术，1979 年报道过第一次成功地应用高分辨 GC 柱于 GC-FT1R进行香料分析[8]。有人发展了红外光谱图书馆检索程序[9]，并且证明 GC-FTIR 联用对快速鉴定有机化合物是很有效的。关于 GC-MS、GC-FTIR 的分析方法已有人进行过综述[10]。

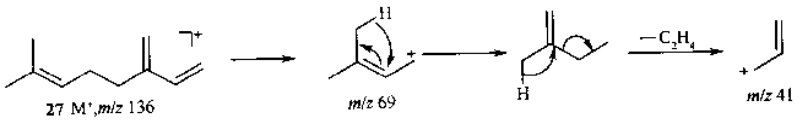
三、单萜化合物的结构鉴定

单萜类化合物的结构与其他天然产物一样，主要是通过现代光谱解析来确定，其中核磁共振波谱和质谱技术对其结构解析能够提供最为详尽的信息。对各种类型的单萜质谱数据及其裂解规律已有详尽的文献归纳[11]。^{1}H-NMR[12]和^{13}C-NMR[13,14]也已有综述文献报道。

1. 单萜类的质谱

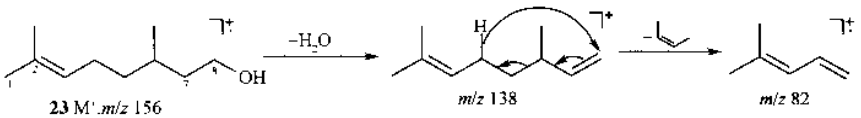
1）无环单萜的质谱裂解规律

月桂烯、香橙醛、香橙醇、异柠檬牛儿醇、γ-异柠檬牛儿醇、香茅醛和香茅醇的离子峰 m/z 69 和 m/z 41 很强，前者包括 $C_1 \sim C_4$ 及一个取代甲基，为直接烯丙裂解的产物，后者来自前者重排失去乙烯，以月桂烯(**27**)为例：



香茅醛(**24**)和香茅醇(**23**)都有几个偶数质量的离子峰，前者有离子峰 m/z 110(M^+-44)、88(M^+-70)和 56(M^+-70-CO)。离子 m/z 110 来自醛基的麦克拉佛特重排裂解，m/z 84 来自 C_2、C_3 双键的麦克拉佛特重排裂解，然后失去一氧化碳得离子 m/z 56；后者得离子 m/z 82 来自 M^+-H_2O 离子峰 m/z 138 形成 C_7、

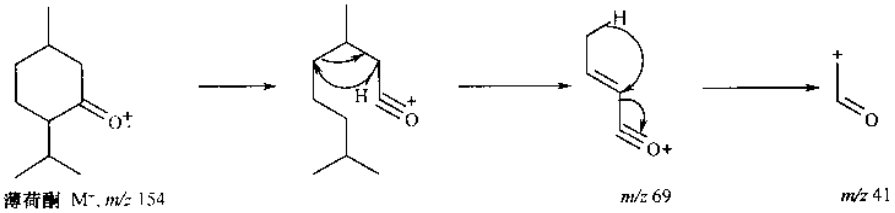
C_8 双键后进行麦氏重排失去 C_4H_8 后产生：



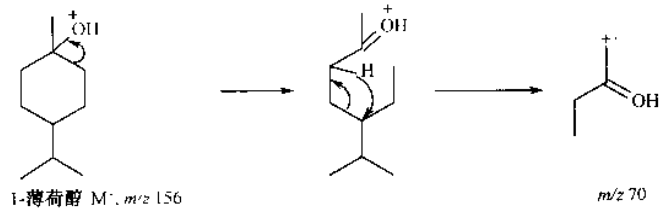
芳樟醇(**22**)的离子峰 m/z 71 为基峰，这是羟基的 α-裂解、双键的烯丙裂解及多分支裂解的产物，这个离子含有 C_6、C_7、C_8 及羟基和甲基取代基。

2）单环单萜的质谱裂解规律

薄荷烷类的主要裂解是 M^--C_3H_7-H 和 M^+-C_3H_7-C_3H_6。薄荷酮类的裂解是 M^+-C_3H_7 或 M^+-CH_2CO，离子 m/z 69 可能具有 $CH_3CH{=}CH{=}O^+$ 的结构，再失去一氧化碳即得离子 m/z 41，例如：

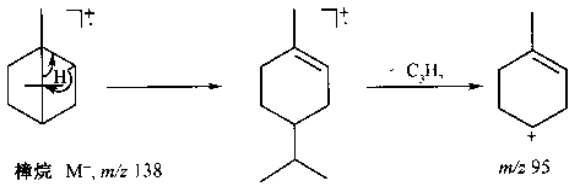


C_1 或 C_3 薄荷单元醇类除了 M^+-CH_3、M^+-H_2O、M^+-CH_3-H_2O 等离子外，都有离子 m/z 95、m/z 81、m/z 71，离子 m/z 95 可解释为 M^+-H_2O-C_3H_7，m/z 81 可解释为 M^+-H_2O-C_3H_6-CH_3，m/z 71 为 C_4H_7O，产生方式可能为



3）双环单萜的质谱裂解规律

樟烷(camphane)的主要碎片离子是 M^+—CH_3 和 M^-—C_3H_7，失去异丙基前要先重排氢原子，可能的裂解如下



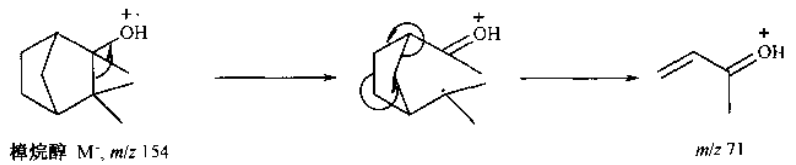
樟脑类的裂解太复杂，大致都有强峰 M^+—CH_2CO、M^+—C_3H_7、M^+—CH_2CHCOH、M^+—CH_2CO—CH_3 和 M^+—C_3H_7—CO 等离子。龙脑类的强峰 m/z 95 来自离子 m/z 110 再去甲基，而离子 m/z 110 是分子离子失去 CH_2CHCOH。樟烷-2,3-二醇类很易失水，失水后的裂解类似樟脑类，基峰都是 m/z 95。有羟甲基的樟烷二醇类都有明显的 M^+—CH_2OH 离子。

苎烷酮类的主要裂解途径是 M^+—CH_2CO—CH_3。苎烷醇类的主要裂解途径是 M^+—H_2O—CH_3 和 M^+—CH_2CO—C_3H_7。

苎烯类的主要是失去异丙基，苎烯醇类都有强的离子 m/z 92 和 m/z 91，前者可能来自 M^+—H_2O 再失去 C_3H_6，后者来自 M^+—H_2O 再直接失去异丙基。

樟烷酮类的主要裂解是 M^-—CH_2CO—CH_3，失去 44u 可能是分子重排后失去乙醛。

樟烷醇的离子 m/z 71 可能如下生成：



樟烯的离子 m/z 93 应当是氢重排后失去异丙基。

2. 单萜类的^{1}H-NMR 谱和^{13}C-NMR 谱

^{1}H-NMR 和^{13}C-NMR 谱中含有丰富的结构信息，是单萜类化合物结构研究中的重要手段。单萜类化合物的结构相对比较简单，从^{13}C-NMR 波谱中各组信号的化学位移，大致可判断其结构类型，利用高兆赫^{1}H-NMR 波谱，由于各质子信号分离得比较好，偶合常数通常容易确定，常能以此解决其平面结构，再利用偶合常数，NOE 及^{13}C-NMR 化学位移的差异等初步确定其立体结构。环烯醚萜及其苷类化学位移特征性较强，以此类化合物为例，将其一般规律简单归纳如下：

1) 在有取代的环烯醚萜类化合物中，由于环的柔韧性，环戊烷上 C-6、C-7、C-8 的相对构型一般较难确定。^{1}H-NMR 波谱中，当 $J_{5,6}$小于 1Hz 时，可确定取代基在 6β 位，而当 $J_{1,9}\geqslant$8Hz 时，可确定为 6α 取代。

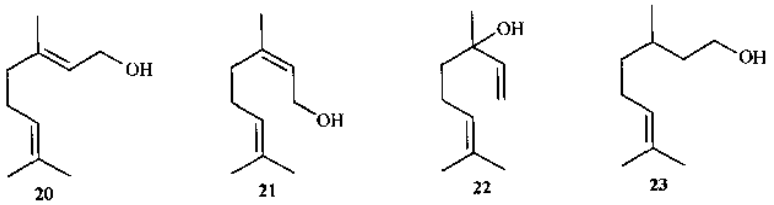
2) 对于一般的环烯醚萜苷来说 C_1—OH 与葡萄糖成苷，C-1 化学位移在 95～104ppm，如果 C-5 位存在羟基时，其化学位移在 71～74ppm，如果 C-6 位存在羟基时，其化学位移在 75～83ppm，C-7 一般情况下没有羟基，如果 C-7 位存在羟基时，其化学位移在 75ppm 左右，如果 C-8 位存在羟基，其化学位移在 62ppm 左右，C-10 位甲基通常为羟甲基或羧基化，如果 C-10 为羟甲基其化学位移在 66ppm 左右，若 C-7 有双键，其化学位移在 61ppm 左右。C-10 为羧基时，其化学位移在 175～177 之间。C-11 位通常以羧酸甲酯、羧基或醛基形式存在，如为醛基时，化学位移酯 190ppm 左右，为羧基时，化学位移在 170～175ppm 之间，如果形成羧酸甲酯，其化学位移在 167～169ppm。环烯醚萜绝大多数有 $\Delta^{3(4)}$，由于 C-2 氧的影响，C-3 比 C-4 处于低场。如果分子中 C-7 和 C-8 位之间有双键，且同时 C-8 位有羟甲基取代，则 C-7 比 C-8 处于高场，而如果 C-8 位有羧基取代，则 C-7 比 C-8 处于低场。有的化合物 C-6 为羰基，其化学位移在 212～219ppm 之间。

3) 4-去环烯醚萜苷的^{13}C-NMR 化学位移，由于 C-4 位去掉甲基，所以 C-4 化学位移一般在 139～143ppm，C-3 在 102～111ppm 之间。

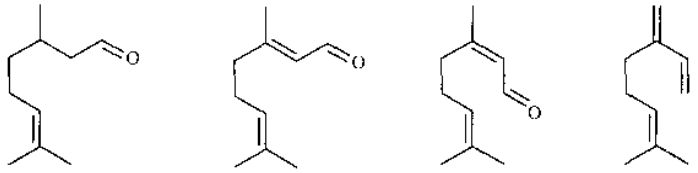
4) 8-去环烯醚萜苷的^{13}C-NMR 化学位移，由于 C-8 位去掉甲基，如果有 $\Delta^{7(8)}$时，其化学位移在 134～136ppm，如果 C-7 和 C-8 与氧形成含氧三元环，其化学位移一般在 56～60ppm 之间。

第三节 无环单萜化合物

具有 2,6-二甲基辛烷型的单萜化合物中，最重要的是牻牛儿醇(geraniol,**20**)、橙花醇(nerol,**21**)、芳樟醇(linalool,**22**)、香茅醇(citronellol,**23**)、香茅醛(citronellal,**24**)、柠檬醛(citral,Z 式 **25**,E 式 **26**)等萜醇类化合物，为香料工业中最主要的单萜类成分，此外还有 β-月桂烯(myrcene,**27**)等萜烯类成分。这些萜醇是精油引起嗅觉的重要成分，自古以来都被应用于香料制造。从前这些醇是从精油分离而得的，如牻牛儿醇和香茅醇得自香茅油，而芳樟醇得自玫瑰木油。



20 **21** **22** **23**



24 25 26 27

表 5-2 列出了合成单萜醇的几条途径，最早的途径是从天然产物中分离出含有萜类衍生物和用化学方法加以改造[15-17]。这些产物的工业合成，从 20 世纪 50 年代初就已开始，用官能化无环异戊二烯化合物的方法，其方法是用从松节油分离出来的天然萜烯类获得的无环天然异戊二烯化合物为原料，在分子中加入官能团[18-20]。此后，异戊二烯化合物的全合成，主要通过 6-甲基-5-庚烯-2-酮进行系统的合成，引起了工业上的兴趣[21,22]。其他用于合成萜醇类化合物的方法是所谓的“分段合成”[23]；一个非常重要的方法是在异戊二烯的衍生物分子中加入官能团的同系化反应[24]。

表 5-2 2,6-二甲基辛烷萜醇类化合物的合成

方法	关键原料	最终产物
含官能团的萜类衍生物的化学改造	柠檬醛	橙花醇/牻牛儿醇
	橙花醇/牻牛儿醇	芳樟醇
	芳樟醇	橙花醇/牻牛儿醇
	橙花醇/牻牛儿醇	香茅醇
在从天然萜烯获得的异戊二烯类化合物上加上官能团	月桂烯	橙花醇/牻牛儿醇
	(得自 β-蒎烯)	芳樟醇　月桂烯醇
	蒎烷(得自 α-蒎烯)	芳樟醇
	二氢月桂烯(得自蒎烷)	香茅醇　二氢月桂烯醇
异戊二烯类化合物的全合成：		
系统合成	甲基庚烯酮	芳樟醇
		橙花醇/牻牛儿醇
		香茅醇
分段合成	异戊二烯卤化物	橙花醇/牻牛儿醇
	异戊二烯基砜	芳樟醇
从异戊二烯合成：		
调(节)聚(合)反应	萜烯基卤化物	橙花醇/牻牛儿醇
	N,N-二乙基萜烯胺	芳樟醇
	月桂烯	橙花醇/牻牛儿醇
线性二聚反应	二氢月桂烯类	芳樟醇
		香茅醇
		月桂烯醇
		二氢月桂烯醇
		二氢月桂烯醇
环形二聚反应	二甲基环辛二烯	橙花醇/牻牛儿醇
	二甲基庚二烯	香茅醇

萜醇类最重要的化学反应总结在表 5-3 中。

表 5-3 2,6-二甲基辛烷萜醇类化合物的最常见反应

方法	起始反应物	最终产物
烯丙位重排反应	橙花醇/牻牛儿醇	芳樟醇
	芳樟醇	橙花醇/牻牛儿醇
氢化反应	橙花醇/牻牛儿醇	香茅醇
	香茅醇	二甲基辛醇
	芳樟醇	四氢芳樟醇
脱氢反应	橙花醇/牻牛儿醇	柠檬醛
氧化反应	橙花醇/牻牛儿醇	柠檬醛
	芳樟醇	
环氧化反应	橙花醇/牻牛儿醇	萜醇
	芳樟醇	环氧化物
酯化反应	橙花醇/牻牛儿醇	萜醇的酯
	香茅醇	
	芳樟醇	
	二氢月桂烯醇	
水合反应	香茅醇	
脱水反应	橙花醇/牻牛儿醇	羟基香茅醇
	芳樟醇	单萜烯类
环化反应	橙花醇/牻牛儿醇	
	芳樟醇	松油醇
σ迁移重排(Claisen)	香茅醇	
	芳樟醇	薄荷醇
Diels-Alder 反应	月桂烯醇	牻牛儿丙酮 羟醛类

第四节 单环单萜化合物

最重要的环状单萜醇——薄荷醇(menthol, **28**)是薄荷烷族的一个成员,薄荷醇又称薄荷脑(menthacamphor)为薄荷 *Mentha arvensis* 的主要成分,一般占薄荷油的 50%以上,最高可达 85%,由于薄荷醇在薄荷油中占主要地位,工业上一般用直接冷冻法,即将薄荷油在 -5℃下放置,直接析出薄荷醇结晶,经反复结晶后得纯品。

一、薄 荷 醇

由于薄荷醇分子中存在着三个不对称碳原子,所以它能够产生四对不同的立体异构的外消旋体。

(1) (±)-薄荷醇,所有三个取代基都处于平伏键的向位上。

(2) (±)-新薄荷醇,只有羟基处于竖键的向位上。

(3) (±)-异薄荷醇,只有甲基都处于竖键的向位上。

(4) (±)-新异薄荷醇,所有羟基和甲基都处于竖键的向位上。

薄荷醇的八个手性立体异构体的绝对构型如图 5-2 所示,除了(-)-薄荷醇和(+)-新薄荷醇存在于天然薄荷油中,其他异构体都是由合成法制得的。

(-)-薄荷醇(28b)为白色针状晶体,熔点 42.5～43℃,沸点 216℃,$[\alpha]_D^{20}$ -50°(*c* 2.0, $CHCl_3$)。

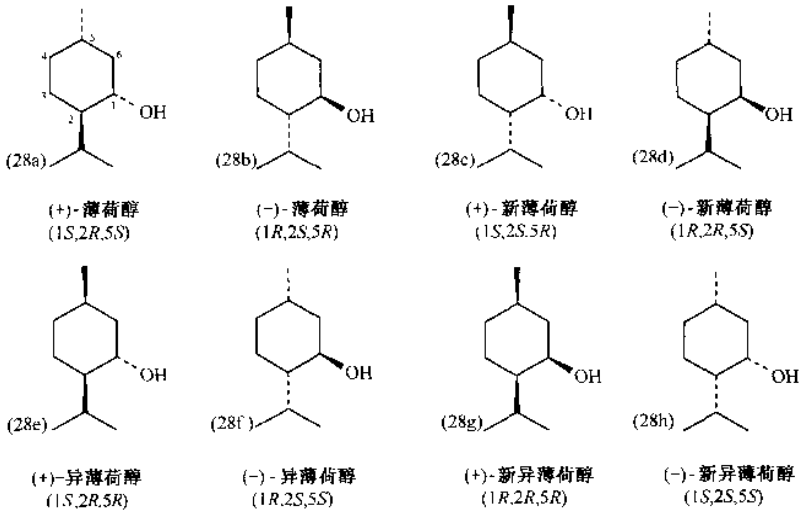


图 5-2

二、(±)-薄荷醇的拆分

有三种方法曾经被用于(+)-薄荷醇和(−)-薄荷醇混合物的拆分。

1. 借助于旋光试剂的拆分

用旋光性的试剂与(±)-薄荷醇反应,即生成具有不同物理性质的两个非对应异构体的混合物,通过分段结晶等方法可将它们分开,生成的衍生物经水解反应可得到两者均为纯净状态的(+)-薄荷醇和(−)-薄荷醇。曾经使用过的旋光性试剂有生物碱的盐类[25]、1-(α-萘基)乙胺盐类[26]、邻苯二甲酸、龙脑酸[27]、樟脑-10-磺酸[28]和薄荷氧基(menthoxy)乙酸[29],以及旋光性的顺和反式 *N*-苯甲酰-2-氨基环己烷羧酸[30~32]和(−)精氨酸[33]等。

一个用旋光性的乳酸乙烯酯和马来酐获得的旋光性聚合物进行拆分的技术是基于该聚合物能与对映体之一优先发生酯交换反应[34]。旋光试剂价格昂贵及繁杂的分离技术是这些方法的主要缺点。

2. 借助于微生物的拆分

微生物分离技术是基于特定的细菌和真菌所产生的酶对(+)-薄荷醇和(−)-薄荷醇及其衍生物的酯化反应或水解反应具有不同的速度。日益引起人们关心的因化学反应造成的环境污染,以及复杂反应过程容易在生物体内实现,这两个方面都促进了在此领域里的研究工作。然而大量的稀释、长时间的反应,以及产物的嗅觉质量较差等是此方法的严重障碍。微生物细胞固定化技术能够大大改进这些过程,不仅能够使它们适应复杂化学物质的合成,而且还具有竞争性。

通过无旋光性香茅醛的环化反应得到的(±)-异胡薄荷醇乙酸酯,曾借助于微生物法被拆分[35]。

3. 借助于无旋光试剂的拆分

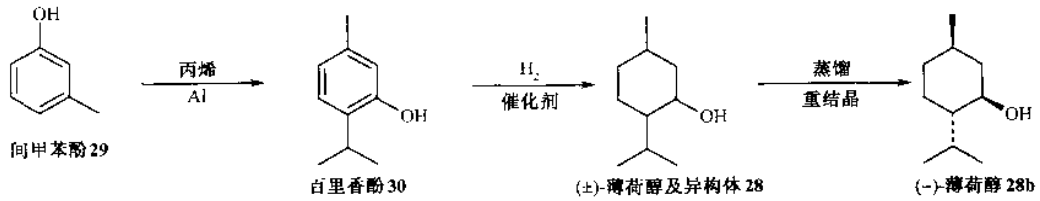
借助于无旋光试剂的拆分方法是 Pasteur 拆分(±)-酒石酸时使用过的一个经典方法,这取决于每个对映体各自结晶的形成。用一种对映体的结晶接种于(±)-混合物的饱和溶液中,引发这种对映体立即结晶出来。由于实际操作的原因,可把原始的饱和溶液分成两等份,一份与(+)-异构体相关的化合物接种,另一份则用与(−)-异构体相关的化合物接种。然后把母液合并起来循环使用,这样可以使起始原料的成分不变。

虽然以前用这种方法实际上只有少数几个的成分能获得成功,但是人们发现苯甲酸的某些衍生物对(±)-薄荷醇的这种成分特别有用[36]。与其他大多数方法相比,这个方法的最大优点是成本较低。

三、(－)-薄荷醇的合成

(＋)-薄荷醇和(－)-薄荷醇的嗅觉和器官感觉的性质之间存在着极大的差别。(－)-薄荷醇具有清新、轻快、飘逸、带有甜美刺激性的气味，并且具有类似薄荷主香气味的特征，而(＋)-薄荷醇具有刺激、杂有木头气味的薄荷香味并稍带樟脑所特有的气味[37]。(－)-薄荷醇的清凉功效使其比(＋)-薄荷醇有价值得多。除去(－)-薄荷醇是一个重要的香气和香味化合物之外，它同时也广泛应用于制药工业。(－)-薄荷醇最重要的天然来源是东亚薄荷油(75%～90%)和胡椒薄荷油(50%～65%)，前者主要供应者是中国(包括台湾省)、日本，以及巴西，而美国、前苏联、保加利亚和意大利则是后者的主要供应者。虽然目前(－)-薄荷醇仍主要从天然来源获得，但关于它的合成已进行了大量的工作，并已有工业化生产。下面介绍一条已应用于工业化生产的合成路线。

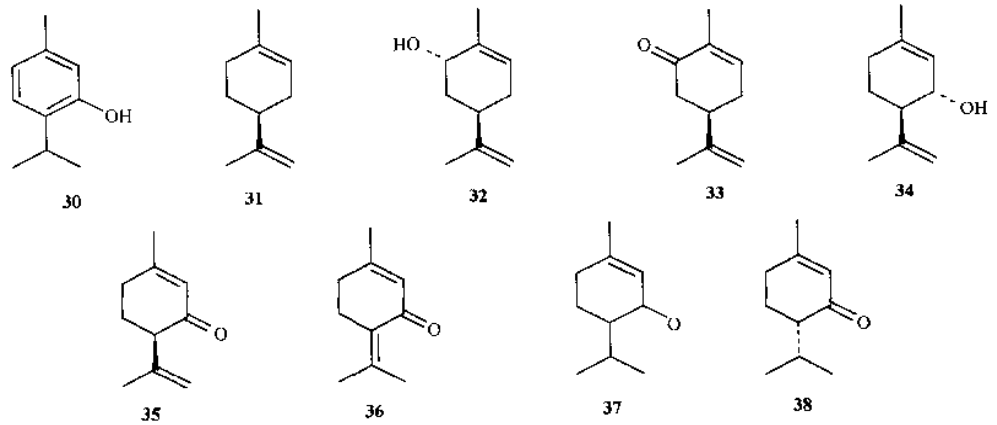
Reimer-Tiemann 及其相关反应，许多生产厂家的原始产品都是用这一方法获得，德国公司 Haarmann & Reimer 用此方法年产 1500t 的(－)-薄荷醇，其合成的具体过程如图 5-3 所示，百里香酚(thymol，**30**)除了从天然来源分离得到外，还可以很容易地由间甲苯酚(*m*-cresol，**29**)和丙烯通过异丙烯化反应制得，百里香酚经催化氢化即产生四对非对映异构的薄荷醇的化合物，其中含 62%～64%薄荷醇、18%～20%新薄荷醇、10%～12%的异薄荷醇和 1%～2%的新异薄荷醇，其中(±)-薄荷醇很容易通过分馏的方法来分离，再经拆分后，(＋)-薄荷醇和其他三对异构体与百里香酚混在一起，再使之经受外消旋化和氢化反应。反应如下



间甲苯酚 29　　百里香酚 30　　(±)-薄荷醇及异构体 28　　(－)-薄荷醇 28b

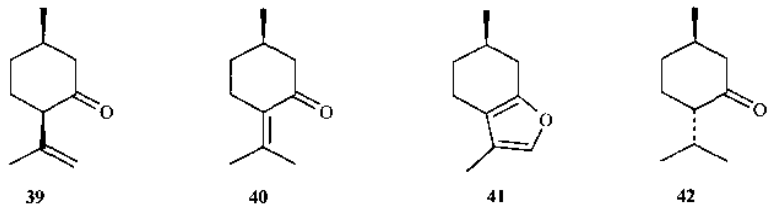
四、(±)-薄荷醇的类似物

其他薄荷烷族类似物还有(－)-柠檬烯(limonene，**31**)、(－)-反式香芹醇(*trans*-carveol，**32**)、(－)-香芹酮(carvone，**33**)、(－)-反式异薄荷二烯醇(*trans*-isopiperitenol，**34**)、(－)-异薄荷二烯酮(isopiperitenone，**35**)、薄荷二烯酮(piperitenone，**36**)、(－)-薄荷烯酮(piperitone，**37**)、(＋)-薄荷烯酮(piperitone，**38**)、(＋)-顺式异胡薄荷酮(*cis*-isopulegone，**39**)、(＋)-胡薄荷酮(pulegone，**40**)、薄荷呋喃(menthofuran，**41**)、(－)-薄荷酮(menthone，**42**)、(＋)-异薄荷酮(isomenthone，**43**)、α-松油醇(α-terpineol，**44**)、β-松油醇(β-terpineol，**45**)、γ-松油醇(γ-terpineol，**46**)、布枯脑(diosphenol，**47**)、对聚伞花素(*p*-cymene，**48**)、百里香酚(thymol，**30**)及香芹酚(carvacrol，**49**)等。香芹酚(**49**)和百里香酚(**30**)具有抗阳性及阴性革兰氏菌的作用[38]。

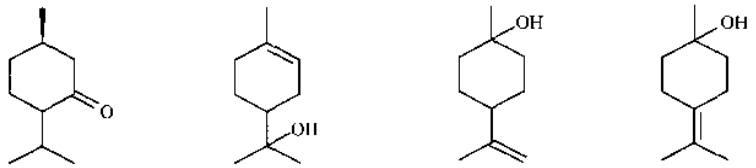


30　**31**　**32**　**33**　**34**

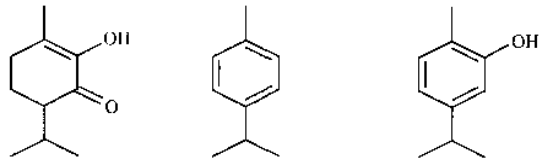
35　**36**　**37**　**38**



39 40 41 42



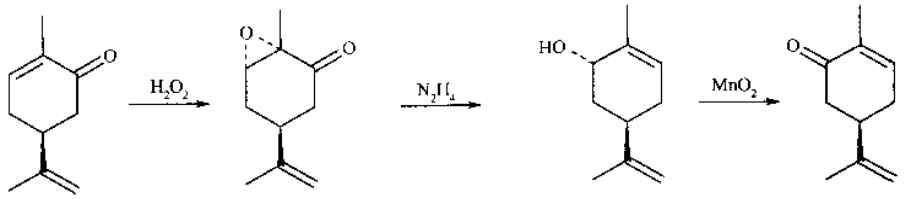
43 44 45 46



47 48 49

香芹酮是重要的工业香料。Leitereg 等[39]用气相色谱法从留兰香油中提取纯化出天然的(－)-香芹酮(**36**),而从黄蒿油提取出(＋)-香芹酮(**50**)。通过嗅觉试验精心评价后,发现前者具有留兰香特性,而后者具有黄蒿的香气。

Russell 与 Hills[40]及 Friedman 与 Miller[41]证实了香芹酮对映体之间存在着重大香气差别。后两位作者将高纯度的(＋)-香芹酮(**50**)经中间体 **51** 和 **32** 转化为它的对映体(－)-香芹酮(**33**),然后 **33** 又可通过相同步骤再转变为**50**。该反应路线排除了痕量杂质对香气的可能影响。反应如下



50 51 32 33

(－)-薄荷酮(**42**)常温下为液体,熔点－6℃,沸点 207℃,$[\alpha]_D$－24.8°,有微弱似薄荷的香气。

MS(m/z):154(M^+),139,112,97,83,69,55,41[12]。

^{13}C-NMR(δ ppm):33.5(d, C-1),50.9(t, C-2),211.5(s, C-3),55.9(d, C-4),28.0(t, C-5),34.0(t, C-6),22.3(q, C-7),26.0(d, C-8),18.7(q, C-9),21.2(q, C-10)[15]。

(－)-香芹酮(**33**)常温下为液体,沸点 67℃/5mmHg,$[\alpha]_D$－163.9°。

MS(m/z):150(M^+),135,121,108,93,82,54,39[12]。

^{13}C-NMR(δ ppm):135.2(s, C-1),143.8(d, C-2),31.2(t, C-3),42.7(d, C-4),43.1(t, C-5),197.6(s, C-6),15.3(q, C-7),147.2(s, C-8),110.3(t, C-9),20.2(q, C-10)[42]。

五、桉树脑及其类似物

桉树脑型单萜是由松油醇通过环氧化、脱水而形成[40]。在植物中最常见的是1,8-桉树脑(1,8-cineol,**52**),又称桉油精,是桉叶油的主要成分,也存在于其他一些挥发油中;沸点为176～177℃,它具有解热消炎作用和较强的抗菌防腐能力,常作香料和防腐剂。

另外,还有驱蛔素(ascaridole,**53**),存在于土荆芥的挥发油中,故又称为土荆芥油精,因系过氧化物,加热至130～150℃时可爆炸并分解。它具有较强的驱蛔能力,并已在实际中应用。



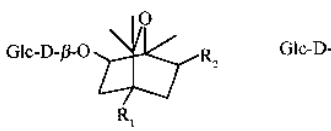
52 **53**

驱蛔素(**53**)熔点3.3℃,沸点39～40℃/0.2mmHg,115℃/15mmHg。

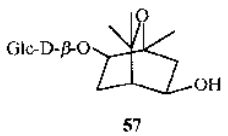
^{13}C-NMR(δ ppm):73.7(s, C-1),136.6(d, C-2),133.1(d, C-3),79.2(s, C-4),26.2(t, C-5),30.0(t, C-6),21.5(q, C-7),32.5(d, C-8),17.2(q, C-9),17.4(q, C-10)[42]。

近年来,又发现了多氧化的衍生物及其苷类,如化合物(**54**)是从植物 *Cunila spicata* 中分得的[43]。五个单葡萄糖苷(**55～59**)是从 *Foeniculum vulgare* 的果实中分离得到[44]。

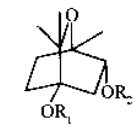
从 *Torillis japonica*[45]的果实中分离得到一个新的羟基桉树脑苷类化合物(**60**)。2-羟基-1,8-桉树脑-β-D-葡萄糖吡喃苷的四种可能的立体异构体都已从 *Foeniculum vulgare* 的水提取物中分离得到[46],同时还得到了五个新的二羟基桉树脑类化合物(**61～65**)。



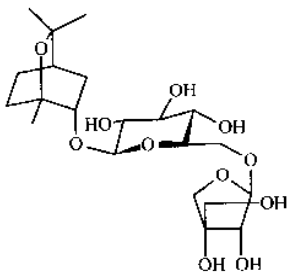
54 R_1=R_2=H
55 R_1=OH,R_2=H
56 R_1=H,R_2=OH



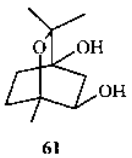
57



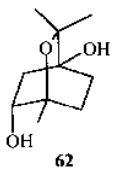
58 R_1=R_2=β-D-Glc
59 R_1=β-D-Glc,R_2=H



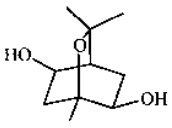
60



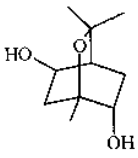
61



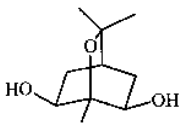
62



63



64



65

第五节 双环单萜化合物

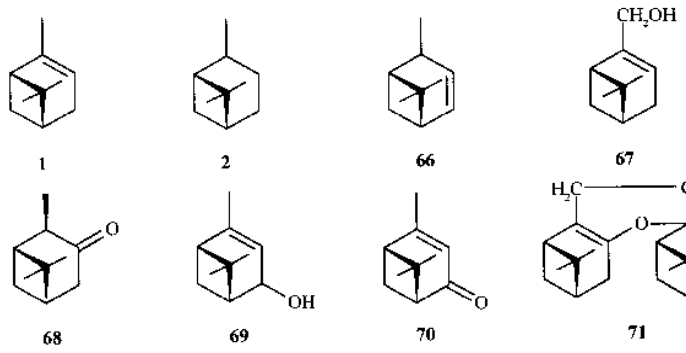
一、蒎烷型化合物

我国产的松节油(turpentine)主要得自马尾松(*Pinus massoniana* Lamb.)、云南松(*P. yunnanensis* Fr.)、红松(*P. koraiensis* Set Z.)和华山松(*P. armandii*),尤以马尾松为主要来源。其中的主要成分为α-蒎烯(α-pinene,**1**)、β-蒎烯(β-pinene,**2**)及δ-蒎烯(δ-pinene,**66**)均属蒎烷类衍生物。α-蒎烯在松节油中含量最高,可达60%以上,为重要的工业原料,如合成紫丁香香精、樟脑、龙脑等。

此外得自 *Myrtus communis* L. 花和叶中的桃金娘烯醇(myrtenol,**67**)、存在于 *Hyssopus officinalis* 等挥发油中的松樟酮(pinocamphor,**68**)及得自马鞭草油(verbena oil)的马鞭草烯醇(verbenol,**69**)、马鞭草烯酮(verbenone,**70**)等均属此类型的植物成分。

得自土荆芥(*Chenopodium ambrosioides* L.)挥发油中的土荆芥酮[47, 48](aritasone,**71**),可以认为是蒎烷的二聚体衍生物;熔点105~106℃,$[\alpha]_D^9$ -118.6°。

芍药苷(paeoniflorin,**72**)是毛茛科芍药属植物芍药(*Paeonia albiflora*)根中的蒎烷单萜苦味苷[49],通常以苯甲酸酯的形式存在。在芍药中还有白芍药苷(albiflorin,**73**)、氧化芍药苷(oxypaeoniflorin,**74**)、苯甲酰芍药苷(benzoylpaeoniflorin,**75**)等结构类似的苷,多具有镇静、镇痛、抗炎活性。从白芍(*Paeonia lactiflora* Pall.)的根中分得芍药新苷[50~52](lactiflorin,**76**)。



72 R_1=H, R_2=H
74 R_1=OH, R_2=H
75 R_1=H, R_2=C_6H_5CO

芍药苷(**72**),白色无定形粉末,$[\alpha]_D^{16}$ -12.8°(*c* 4.6, MeOH)。硫酸显紫褐色,紫外光谱中在230nm处苯甲酰基特征吸收。^{1}H-NMR谱给出一个甲基信号δ 1.35ppm (3H, s, 10-H)、一个缩醛氢信号δ 5.42ppm (1H, s, 9-H)和一个连氧的亚甲基信号δ 4.74ppm (2H, s, 8-H)。另外,还有一组苯甲酰基质子信号和一组葡萄糖质子信号。其碳谱和氢谱数据归纳如下[53,54]:

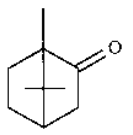
^{1}H-NMR(δ ppm):1.81(1H, d, J = 12.5Hz, 3α-H),2.19(1H, d, J = 12.5Hz, 3β-H),2.56(1H, d, J = 6.5Hz, 5-H),1.95(1H, d, J = 10.8Hz, 7α-H),2.49(1H, m, J = 10.8Hz, 6.5Hz, 7β-H),4.74(2H, s, 8-H),5.42(1H, s, 9-H),1.36(3H, s, 10-H),4.50(1H, d, J = 7.5Hz, 1′-H),3.20(1H, m, 2′-H),3.25

(1H, m, 3′-H),3.23(1H, m, 4′-H),3.23(1H, m, 5′-H),3.61(1H, brd, J=7.5Hz, 6′-H),3.84(1H, d, J=11.7Hz, 6′-H),8.04(2H, d, J=7.5Hz,2″,6″-H),7.47(2H, d, J=7.5Hz, 3″,5″-H),7.60(1H, m, J=7.5Hz, 5″ H)。

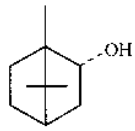
^{13}C-NMR(δ ppm):87.3(s, C-1),85.2(d, C-2),42.5(t, C-3),104.4(s, C-4),41.9(d, C-5),70.2(s, C-6),21.4(t, C-7),59.7(t, C-8),100.2(d, C-9),17.6(q, C-10),98.1(d, C-1′),72.9(d, C-2′),75.9(d, C-3′),69.7(d, C-4′),75.9(d, C-5′),60.8(t, C-6′),129.1(s, C-1″),128.6(d, C-2″,C-6″),127.6(d, C-3″,C-5″),132.4(d, C-4″),166.0(s, C-7″)。

二、樟烷及异樟烷型衍生物

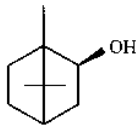
樟烷单萜化合物一般以含氧衍生物的形式存在于植物界,如樟脑(camphor,**77**)、龙脑(borneol,**78**)和异龙脑(isoborneol,**79**)等。樟脑是重要的医药和工业原料,我国的天然樟脑产量占世界第一位,它在自然界中分布不太广泛,主要存在于樟树的挥发油中。樟脑在医药上主要作为刺激剂和强心剂,其强心作用是由于在人体内被氧化成 π-氧化樟脑(*trans*-π-oxocamphor, **80**)和对氧化樟脑(*p*-oxocamphor,**81**)而导致的。



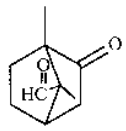
77



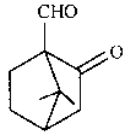
78



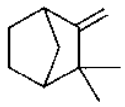
79



80



81



82

樟脑[(+)-camphor]为白色结晶状固体或无色透明的硬块,易升华,具有特殊穿透性芳香气味;熔点179℃,沸点204℃,$[\alpha]_D^{20}$+54.9°(c 5, EtOH)。

MS(m/z):152(M^+), 108, 95, 81, 69, 55[12]。

^{13}C-NMR(δ ppm):57.4(s, C-1),218.6(s, C-2),43.2(t, C-3),43.5(d, C-4),27.2(t, C-5),30.2(t, C-6),46.7(s, C-7),19.2(q, C-8),19.8(q, C-9),9.5(q, C-10)[42]。

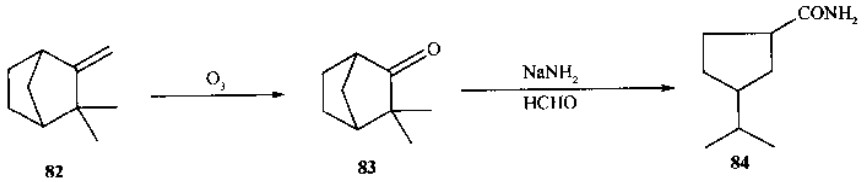
龙脑又称樟醇(camphol),俗名冰片,可看做樟脑的还原产物,其右旋体存在于龙脑香树(*Curcuma aromatica*)木部的挥发油及其他多种挥发油中,左旋体存在于艾纳香(*Blumea balsamifera*)叶子和野菊花(*Dendranthema indicum*)花蕾的挥发油中。一般以游离态或结合成酯存在,如缬草(*Valeriana officinal* L.)的根茎挥发油中含有其乙酸酯。

龙脑为白色片状结晶,具有似胡椒而又似薄荷的香气,有升华性;熔点208℃,沸点212℃,$[\alpha]_D^{20}$+37.7°(c 5, EtOH)。

MS(m/z):154(M^+),139,121,110,95,67,55[12]。

^{13}C-NMR(δ ppm):49.5(s, C-1),77.4(d, C-2),39.0(t, C-3),45.1(d, C-4),28.3(t, C-5),25.9(t, C-6),48.0(s, C-7),18.6(q, C-8),20.2(q, C-9),13.3(q, C-10)[42,55]。

樟烯(camphene,**82**)存在于樟油和其他许多挥发油中,但属于异樟烷衍生物。通过以下反应可以证明其



82 **83** **84**

基本骨架：

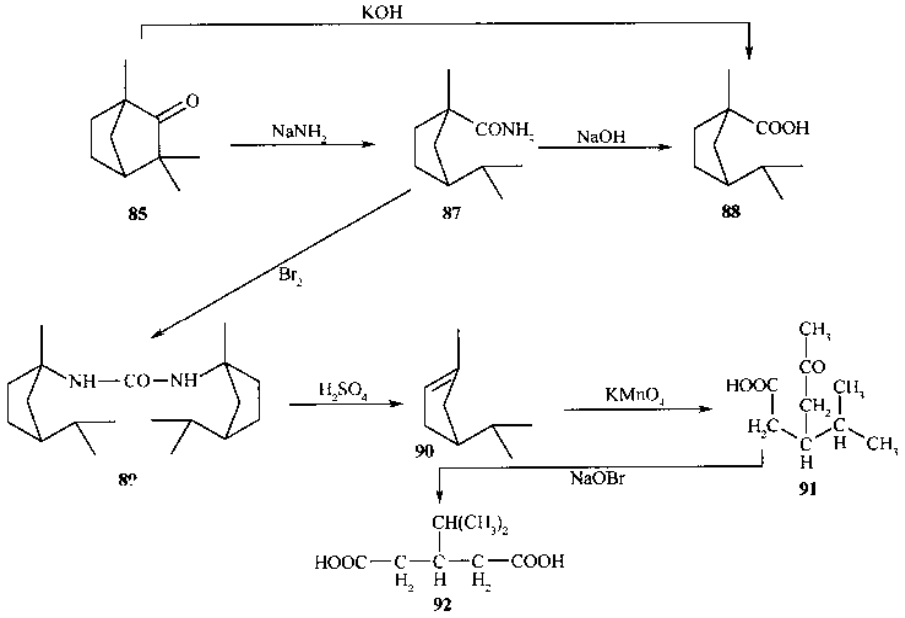
樟烯是一种结晶形的萜烯，熔点 51℃，沸点 158－160℃，$[\alpha]_D^{20}$ +103.5°(Et_2O)。

MS(m/z)：136(M^+)，107，95，83，69，55[56]。

^{13}C-NMR(δ ppm)：47.1(d, C-1)，165.9(s, C-2)，41.9(s, C-3)，48.3(d, C-4)，23.9(t, C-5)，29.0(t, C-6)，37.5(t, C-7)，25.8(q, C-8)，29.5(q, C-9)，99.3(t, C-10)[42]。

三、葑烷型衍生物

葑烷(fenchane)又称茴香烷；茴香酮(fenchone，**85**)是樟脑的异构体，存在于小茴香和侧柏的挥发油中，其结构可通过以下反应证明：



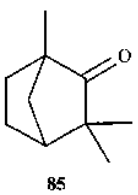
(+)-茴香酮，熔点 3～5℃，沸点 193.5℃，$[\alpha]_D^{29}$ +63°，$[\alpha]_D^{21}$ +48°(CCl_4)。

^{13}C-NMR(δ ppm)：53.9(s, C-1)，222.1(s, C-2)，47.2(s, C-3)，45.3(d, C-4)，25.0(t, C-5)，31.8(t, C-6)，41.6(t, C-7)，23.3(q, C-8)，21.7(q, C-9)，14.6(q, C-10)[57]。

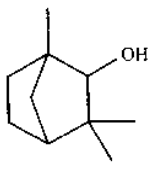
茴香醇(fenchol，**86**)存在于松属植物 *Pinus palustris* 根部的挥发油中。

(－)-α-茴香醇，熔点 43.7～48.5℃，沸点 94℃/20mmHg，$[\alpha]_D^{20}$ －11°(EtOH)。

^{13}C-NMR(δ ppm)：49.1(s, C-1)，84.8(d, C-2)，39.0(s, C-3)，48.0(d, C-4)，25.1(t, C-5)，26.1(t, C-6)，41.1(t, C-7)，20.4(q, C-8)，30.7(q, C-9)，19.6(q, C-10)[42]。



85

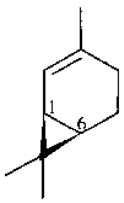


86

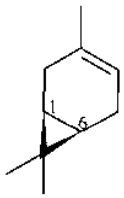
四、蒈烷型衍生物

蒈烷型(carane)化合物，如 2-长松针烯(2-carene，**93**)、3-长松针烯(3-carene，**94**)、β-长松针烯(β-carene，

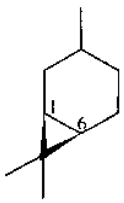
95)和长松针酮(carone,**96**)等。



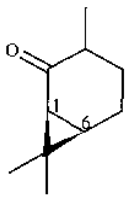
93



94



95



96

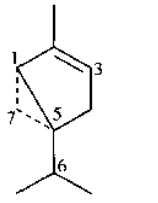
(+)-3-长松针烯,沸点 123~124℃/2.0mmHg,168~169℃/7.5mmHg。

MS(m/z):136(M^+),121,105,93,79,65,53[58]。

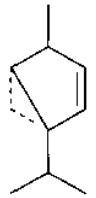
^{13}C-NMR(δ ppm):16.7(d, C-1),24.8(t, C-2),131.1(s, C-3),119.5(d, C-4),20.8(t, C-5),18.7 (t, C-6),23.6(q, C-7),16.7(s, C-8),13.1(q, C-9),28.3(q, C-10)[59]。

五、苎烷型衍生物

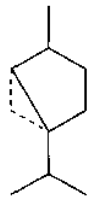
苎烷(thujane)又称侧柏烷。侧柏烯由于分子中双键位置不同而有多种异构体,如 α-侧柏烯(α-thujene,**97**)和 β-侧柏烯(β-thujene,**98**)存在于侧柏枝叶的挥发油中;油冬青烯[(+)-sabinene,**99**]存在于桧油中;侧柏醇(thujanol,**100**)存在于艾蒿和滨蒿的挥发油中,由于分子中含有三个手性中心,所以侧柏醇是各立体异构体的混合物;侧柏酮可看成侧柏醇的氧化产物,二者常共存于一挥发油中。侧柏酮也有多种立体异构体,其中重要的有两种,即 α-侧柏酮[(-)-thujanone,**101**]、β-侧柏酮或称为异侧柏酮[(+)-thujanone,**102**],前者是侧柏叶挥发油的主要成分,后者为艾菊油的主要成分。



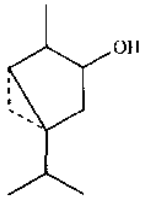
97



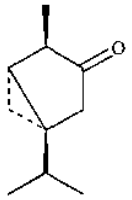
98



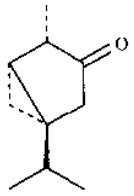
99



100



100



102

β-侧柏酮,沸点 201~202℃,$[\alpha]_D$ +72.5°(neat)。

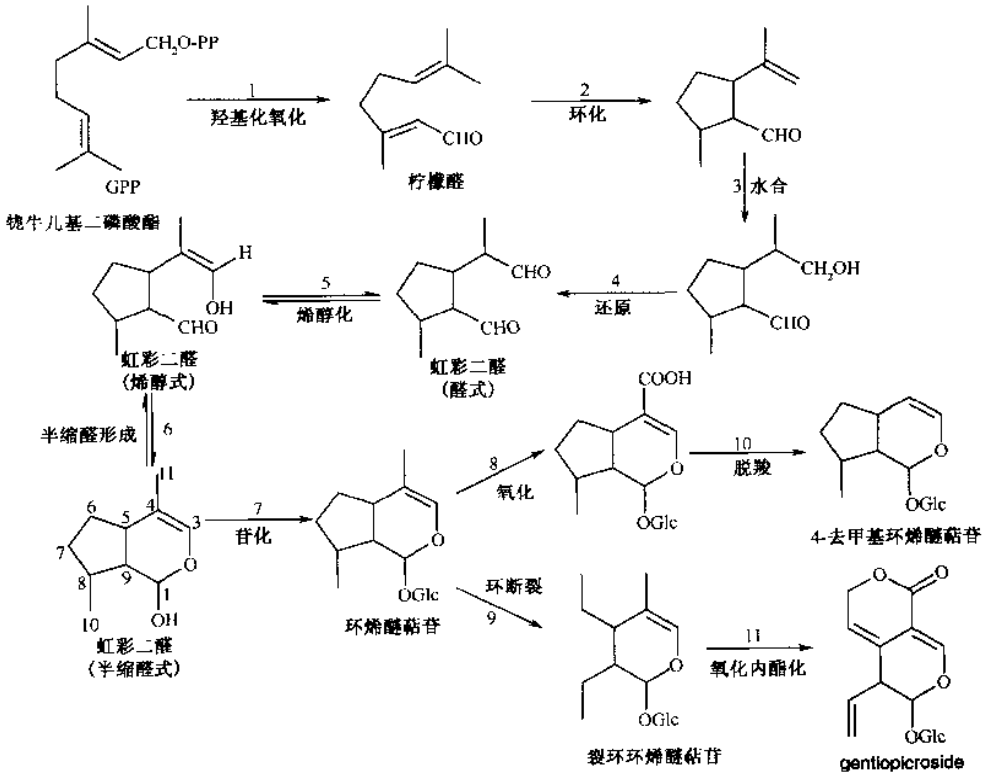
MS(m/z):152(M^+),124,110,95,81,68,55,41[12]。

^{13}C-NMR(δ ppm):25.6(d, C-1),47.4(d, C-2),180.7(s, C-3),39.7(t, C-4),27.9(s, C-5),32.9(d, C-6),18.7 (t, C-7),19.7 (q, C-8),20.0(q, C-9),18.1(q, C-10)[60]。

六、环烯醚萜及其苷类

环烯醚萜(iridoid)衍生物是指植物界中虹彩二醛(iridodial)通过分子内羟醛缩合形成的一类化合物,其结构特征是具有环戊烷吡喃环系统,分子内一般带有环烯醚键。形成的环烯醚萜 4 位上的甲基可经生物氧化形成羧基,然后再发生脱羧反应形成降解产物 4-去甲基环烯醚萜;若在环烯醚萜醇分子中环戊烷部分C-7、

C-8 发生开环，即得到裂环环烯醚萜(seco-iridoid)。此类物质的生物合成途径示意如下

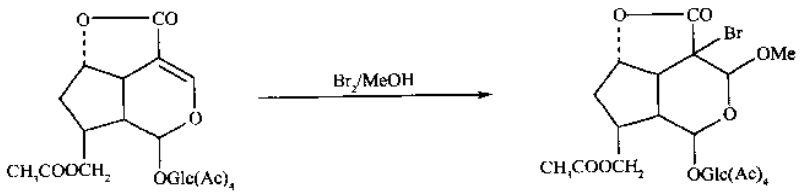


环烯醚萜及其苷类在植物界中分布较广，尤以玄参科、茜草科、唇形科、鹿蹄草科、水晶兰科和龙胆科和木犀科等植物分布最为普遍。在植物体中有游离形式存在，也有以结合状态存在，其中多数以苷的形式存在。环烯醚萜苷和裂环环烯醚萜苷大多是白色结晶体，味苦。其苷类易溶于水、甲醇；溶于乙醇、正丁醇等溶剂；难溶于氯仿、乙醚、苯等亲脂性溶剂。

其苷类易被水解，生成的苷元由于具有缩醛结构，茴香性质活泼，容易进一步分解或聚合，不容易得到结晶性的苷元。苷元遇酸、碱、羰基化合物和氨基酸等都能变色；游离苷元如遇到氨基酸类加热，即显深红色至蓝色，最后生成蓝色沉淀。与皮肤接触，也能使皮肤染成蓝色。在冰醋酸中加少量铜离子加热也能显蓝色。中药玄参、地黄等炮制后变黑，就是这类成分起的作用。

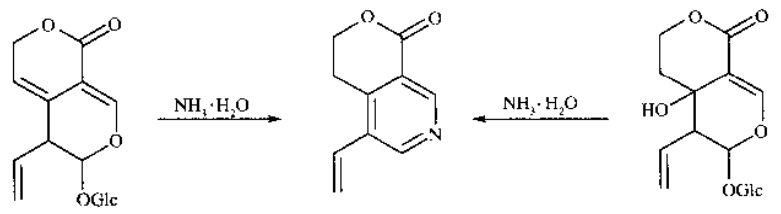
此类成分多能产生吡喃衍生物的特征颜色反应，如 Shear 试剂(浓盐酸与苯胺 1∶15 的混合溶液)与车叶草苷反应，产生黄色然后变为棕色，最后转为深绿色。

环烯醚萜苷类成分分子中环烯醚结构的双键性质活泼，在冷甲醇溶液中即易与溴反应生成溴及甲氧基的加成物。例如，车叶草苷四乙酰化物(**103**)与溴和甲醇的反应如下



103 **104**

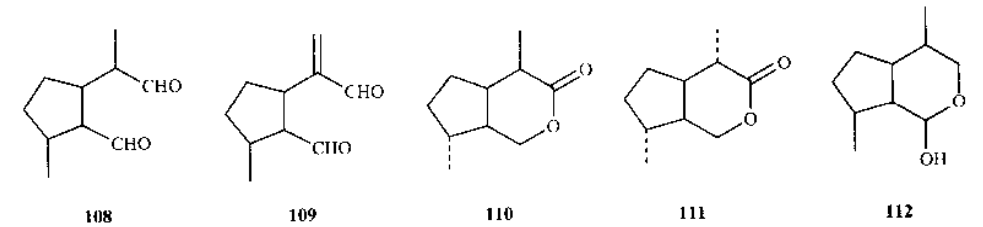
此外，裂环环烯醚萜苷在提取分离过程中与氨作用可转变成生物碱，如日本当药加氨水碱化后，用氯仿提取可得到龙胆碱(gentianine，**107**)和微量的龙胆次碱。Waller[61]等阐述了这些萜类和生物碱之间的结构关系。



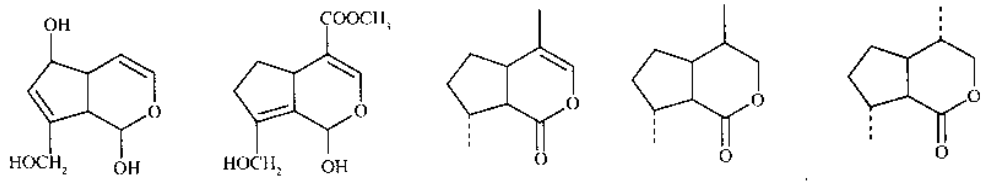
龙胆基苷 105　　龙胆碱 107　　獐芽菜苦苷 106

1. 环烯醚萜及其苷类

环烯醚萜类的衍生物数目较多，其一般结构特点是4,8位多为甲基，1位多数存在取代基，可能为羟基、甲氧基或酮基。3,4位大多有双键，构成典型的环烯醚结构，这一结构类型的衍生物数目最多。例如，虹彩二醛(iridodial，**108**)、道蚁二醛(dolichodial，**109**)、伊蚁内酯(iridomyrmecin，**110**)、异伊蚁内酯(isoiridomyrmecin，**111**)、新木天蓼醇(neomatatabiol，**112**)、桃叶珊瑚苷元(aucubigenin，**113**)、京尼平(genipin，**114**)、存在于假荆芥挥发油中的假荆芥内酯(nepetalactone，**115**)，以及3,4位无双键的二氢假荆芥内酯(dihydronepetalactone，**116**)和异二氢假荆芥内酯(isodihydronepetalactone，**117**)等。



108　**109**　**110**　**111**　**112**



113　**114**　**115**　**116**　**117**

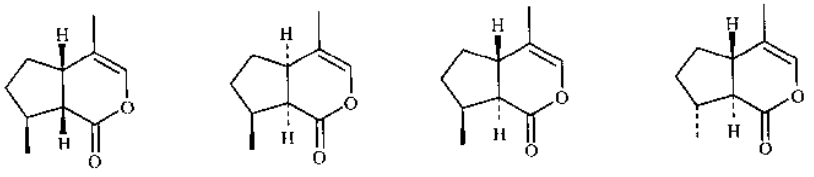
道蚁二醛(**109**)为油状液体[62]，沸点96℃，$[\alpha]_D^{20}$ -72.0°(*c* 4.2，苯)。

UV(λ_{max} nm)223(ε 6965)。

IR(CCl_4 υ_{max} cm^{-1})2710,1724,1695,1630,950。

^{1}H-NMR(δ ppm)：1.08(3H，d，*J* = 6.5Hz，9-H)，3.30(1H，m，2-H)，6.12(1H，s，10-H)，6.28(1H，d，*J* = 1.4Hz，10-H)，9.38(1H，d，*J* = 2.5Hz，1-H)，9.51(1H，s，8-H)。

从印度产植物 *Nepeta elliptica* 挥发油中分离鉴定了四个假荆芥内酯的立体异构体[63]，其中主要成分(*5R*，*8R*，*9R*)-假荆芥内酯(**115d**)的结构通过与其他三个异构体的^{13}C-NMR数据确定：



115a　**115b**　**115c**　**115d**

115d 为油状液体，$[\alpha]_D^{25}$ -222°(c 0.8，$CHCl_3$)，HRMS(M^+，*m*/*z*)166.0989($C_{10}H_{14}O_2$)。

IR(KBr υ_{max} cm^{-1})1755,1650,1445,1375,1322,1290,1260,1170,1140,1100,1070,990,970,950,930。

MS(m/z):166(M^+),151,137,123,109,95,81,69。

^{1}H-NMR(δ ppm):1.17(3H, d, J = 7.1Hz, 10-H),1.67(3H, 容 m, 11-H),1.34～2.57(7H, CH 和 CH_2),6.62(1H, 容 m, 3-H)。

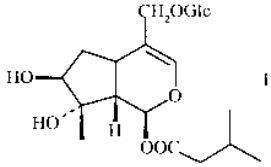
^{13}C-NMR(δ ppm):170.9(s, C-1),135.8(d, C-3),120.3(s, C-4),41.8(d, C-5),25.7(t, C-6),31.7 (t, C-7), 32.5 (d, C-8),52.4(d, C-9),14.2(q, C-10),20.5(d, C-11)。

植物界目前发现的主要是环烯醚萜葡萄糖苷和4-去甲基环烯醚萜苷,常常是1位上羟基与糖缩合成苷,且以单糖苷最为普遍。

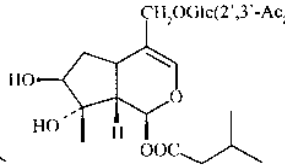
这类环烯醚萜苷常见的有环戊烷型、环戊烯型和7,8-环氧型等。

4-位有取代基的环烯醚萜苷,这类环烯醚萜苷存在于栀子、鸡矢藤、马钱子、金银花、肉苁蓉等中草药中,在植物界分布较广泛。

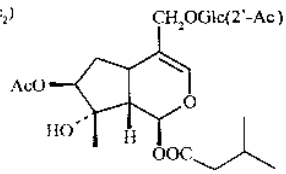
在环烯醚萜苷中有一组化合物,总称为缬草素类(valepotriate,**118**～**120**),用于治疗药物,这些化合物从瓦利缬草(*Valeriana wallichii*)的根中及其他缬草科植物中分离得到。缬草素类的一种成药 Valmane 是轻度镇静剂。药理试验证实了缬草素类混合物具有安定和改善协调能力的作用,它们可对抗乙醇的降压作用[64～66]。



118



119



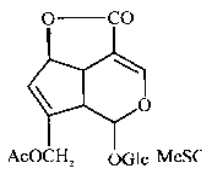
120

又如,鸡矢藤的茎叶用于治疗支气管炎、咳嗽腹胀等疾病,从中分离得到的环烯醚萜有车叶草苷(asperuloside,**121**)、鸡矢藤苷(paederosidc,**122**)、鸡矢藤次苷(scandoside,**123**)、鸡矢藤苷酸(paederosidic acid,**124**)等类似结构的成分。

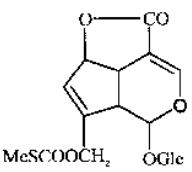
栀子(*Gardenia jasminoides*)是常用中药,用于治疗热病虚烦不眠、黄胆、咽痛及疮疡等疾病,在中医的一些方剂中长期以来作为主药。从栀子果仁中曾先后分离出8种环烯醚萜苷,其中较重要的有栀子苷(jasminoidin,**125**),又称京尼平苷(geniposide,**125**),具有软化大便的作用;其苷元京尼平(genipin,**114**)经药理试验证明具有显著的促进胆汁分泌作用。山栀苷(shanzhiside,**126**)和京平尼-1-氧-龙胆双糖(genipin-1-*O*-gentiobioside,**127**)也存在于该植物中。

其他如治疗五劳七伤和滋阴补肾的中药肉苁蓉中所含的肉苁蓉苷(boschnalosidc,**128**)和列当苦苷(orobanin,**129**),以及马鞭草苷(verbenalin,**130**)马钱素(loganin,**131**)等均属这类成分。

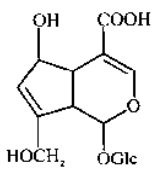
溲疏中存在的溲疏苷(deutzioside,**132**)属于7,8环氧结构类型。



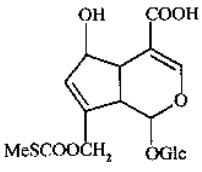
121



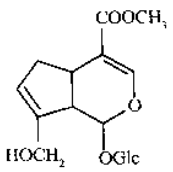
122



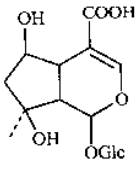
123



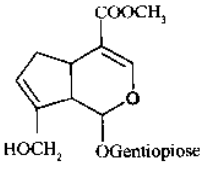
124



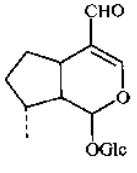
125



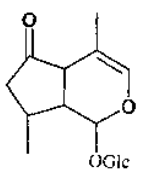
126



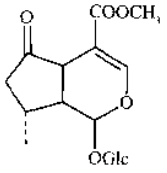
127



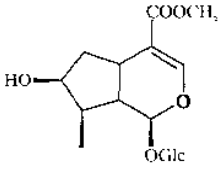
128



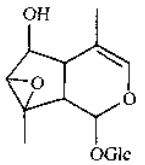
129



130



131

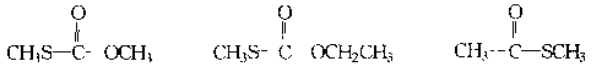


132

鸡矢藤苷(**122**)为鸡矢藤苷酸(**124**)的 γ-内酯,分子中带有两个结晶水。Inouye 等[67,68]仅根据元素分析和转化成其衍生物车叶草苷(**121**)将其结构错误地定为 10-位硫代乙酰化产物。1993 年,Suzuki 等[69]利用核磁共振二维谱技术进行了详尽地 NMR 分析,结合质谱分析纠正了其结构。

该化合物的 FAB-MS 显示 m/z 469($[M+Na]^+$)峰,其^{1}H-NMR 谱的化学位移及偶合常数与车叶草苷(**124**)中各相应信号十分相似,而两者支链上的质子信号却有区别,即乙酰化次甲氧基和乙酰基上的甲基信号,化合物**124** 是在 δ 4.78ppm、4.66ppm 和 2.08ppm,而化合物**122** 中效应的峰要在更低场 δ 4.91ppm、4.83ppm 和 2.34ppm。它们的^{13}C-NMR 谱也十分相似,但 7、8 和 10 位碳信号有明显不同(见下面数据),而且两个化合物支链上的碳的化学位移存在明显差异,化合物**122** 中的甲基碳为 δ 13.5ppm,化合物**121** 乙酰基上的甲基则为 δ 20.6ppm。

由于仅仅以化学位移值无法确定到底是硫代乙酰基还是硫代甲酸甲酯基团,因而合成了下列参照化合物(**A**～**C**)并进行了 NMR 分析。二甲基硫代甲酸酯(**A**)和 *O*-乙基-*S*-甲基硫代甲酸酯(**B**)分别显示硫代甲基信号 δ 13.5ppm 和 13.4ppm,与化合物**122** 中的甲基信号 δ 13.5ppm 相吻合,而化合物 **C** 中的硫代乙酰甲基信号在更低场的 δ 30.2ppm,更进一步可以说明问题的是,化合物 **C** 中的酯羰基碳信号在 δ 197.8ppm,而化合物**122** 的酯羰基在 δ 172.5ppm(化合物**124** 在 δ 172.2ppm),通过碳谱数据对比,与化合物 **A**、**B** 的硫代甲酸酯基本一致(**A**,δ 173.3ppm,**B**,δ 172.7ppm)。



A **B** **C**

化合物**122** 的 IR 谱中,有两个羰基基团吸收峰:1740cm $^{-1}$和 1710cm^{-1},前者可归属为 α,β-不饱和 γ-内酯,后者则为硫代甲酸酯基团,两个合成的硫代甲酸酯类似物 **A** 和 **B** 的羰基吸收分别在 1717cm^{-1}和 1711cm^{-1},与化合物**122** 相符,而硫代乙酸甲酯 **C** 的羰基吸收处于更低频的 1694cm^{-1}。

基于 NMR 研究、FAB-MS 分子离子峰的确定及红外光谱的羰基吸收带,鸡矢藤苷(**122**)可确定为硫代甲酸酯的结构。

由于二甲基二硫醚(dimethyl disulfide)在同一植物中被发现,鸡矢藤苷(**122**)在其生物合成中,硫原子应以硫代甲醇形式参与。

鸡矢藤苷(122),熔点 122～123℃,$[\alpha]_D$ −195°(c 0.41, MeOH)。

UV λ_{max} nm(lgε)235(4.02)。

IR(KBr υ_{max} cm^{-1})1740,1710,1655。

FAB-MS(m/z):469($[M+Na]^+$)。

^{1}H-NMR(δ ppm):5.94(1H, d, J=2.0Hz, 1-H),7.30(1H, d, J=2.0Hz, 3-H),3.69(1H, ddd, J=6.5, 4.0, 2.0Hz, 5-H),5.56(1H, ddd, J=6.5, 2.5, 1.8Hz, 6-H),5.73(1H, ddd, J=2.5, 1.2, 0.8Hz, 7-H),3.37(1H, m, 9-H),4.83(1H, ddd, J=14.0, 2.5, 1.2Hz, 10-H),4.91(1H, ddd, J=14.0, 2.5, 1.2Hz, 10-H),2.34(3H, s, CH_3SCO),4.68(1H, d, J=8.0Hz, 1′-H),3.19(1H, dd, J=9.0, 8.0Hz, 2′-H),3.37(1H, dd, J=9.0, 9.0Hz, 3′-H),3.28(1H, dd, J=9.0, 9.0Hz, 4′-H),3.34(1H, ddd, J=9.0, 9.0, 2.2Hz, 5′-H),3.67(1H, d, J=11.7Hz, 6′-H),3.92(1H, dd, J=11.7, 2.2Hz, 6′-H)。

^{13}C-NMR(δ ppm):93.2(d, C-1),150.3(d, C-3),106.1(s, C-4),37.5(d, C-5),86.2(d, C-6),129.5(d, C-7),143.8(s, C-8),45.3(d, C-9),64.3(t, C-10),172.7(s, C-11),13.5(q, SCH_3),172.5(s, CO),100.0(d, C-1′),74.6(d, C-2′),77.9(d, C-3′),71.5(d, C-4′),78.4(d, C-5′),62.8(t, C-6′)。

车叶草苷(**124**),熔点 125～127℃(131～132℃),$[\alpha]_D$ -195°(*c* 0.41, MeOH)。

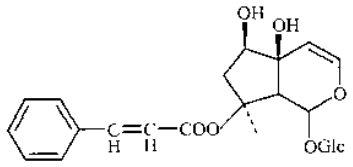
IR(KBr υ_{max} cm^{-1}):1740,1700,1661。

^{1}H-NMR(δ ppm):5.96(1H, d, *J*=1.5Hz, 1-H),7.30(1H, d, *J*=2.2Hz, 3-H),3.68(1H, ddd, *J*=6.5, 3.5, 2.2Hz, 5-H),5.56(1H, ddd, *J*=6.0, 3.0, 1.4Hz, 6-H),5.73(1H, ddd, *J*=3.0, 2.2, 1.4Hz, 7-H),3.37(1H, m, 9-H),4.66(1H, ddd, *J*=14.0, 2.2, 1.4Hz, 10-H),4.78(1H, ddd, *J*=14.0, 2.2, 1.4Hz, 10-H),2.08(3H, s, CH_3CO),4.68(1H, d, *J*=8.0Hz, 1′-H),3.19(1H, dd, *J*=9.0, 8.0Hz, 2′-H),3.37(1H, dd, *J*=9.0, 9.0Hz, 3′-H),3.28(1H, dd, *J*=9.0, 9.0Hz, 4′-H),3.34(1H, ddd, *J*=9.0, 9.0, 2.2Hz, 5′-H),3.66(1H, d, *J*=11.7Hz, 6′-H),3.92(1H, dd, *J*=11.7, 2.2Hz, 6′-H)。

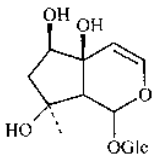
^{13}C-NMR(δ ppm):93.3(d, C-1),150.3(d, C-3),106.2(s, C-4),37.4(d, C-5),86.3(d, C-6),128.9(d, C-7),144.3(s, C-8),45.3(d, C-9),61.9(t, C-10),172.6(s, C-11),20.6(q, $COCH_3$),172.2(s, CO),100.0(d, C-1′),74.6(d, C-2′),77.9(d, C-3′),71.6(d, C-4′),78.4(d, C-5′),62.8(t, C-6′)。

4-去甲基环烯醚萜苷,是环烯醚萜的降解苷,分布在地黄、玄参、生地、车前等中草药中,且是其主要成分。

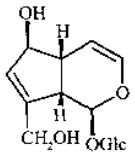
例如,存在于玄参中的玄参苷(harpagoside,**133**)和哈帕苷(harpagide,**134**)属于环戊烷型。存在于车前草中的桃叶珊瑚苷(aucubin,**135**)属于环戊烯型,它是车前草清湿热、利小便作用的有效成分,有抑制革兰氏阳性和阴性菌的作用,且经药理试验证明,桃叶珊瑚苷的苷元及其多聚体有抗菌作用。治疗哮喘及胃肠道疾病的中药牡荆,其有效成分为阿格努苷(agnuside,**136**);梓醇(catapol,**137**)属于7,8-环氧型,是中药地黄中降血糖作用的有效成分,并有很好的利尿作用和迟发性缓下功用,这些都与地黄的药效相一致。梓苷(catapo-side,**138**)存在于中药梓实中。梓实别名臭梧桐角,为紫葳科植物梓的果实。梓实在中药中用做治疗肾炎浮肿等疾病。经实验表明,梓苷的药理作用与梓醇类似。



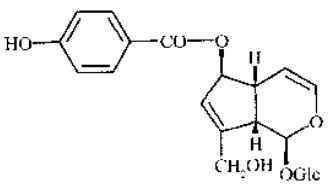
133



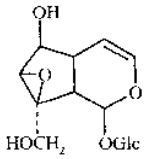
134



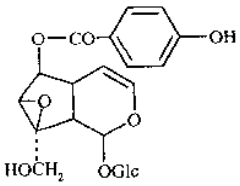
135



136



137



138

玄参苷(**133**)[70],无定型粉末,熔点 128～130℃(117～121℃),$[\alpha]_D^{21}$ -27.7°(*c* 0.19, $CHCl_3$)。

IR(KBr υ_{max} cm^{-1})3400,1690,1600,1570,1505,1445,770。

^{1}H-NMR(δ ppm):1.37(3H, s, 10-H),1.85(1H, dd, *J*=14.5, 4.0Hz, 7-H),2.11(1H, d, *J*=14.5, 7-H),2.77(1H, s, 9-H),3.60(1H, d, *J*=4.0Hz, 6-H),4.77(1H, dd, *J*=6.4, 1.4Hz, 4-H),6.02(1H, s, 1-H),6.25(1H, d, *J*=6.4Hz, 3-H),7.42(1H, m, 2′-H),7.24(1H, m, 3′-H),7.24(1H, m, 4′-H),7.24(1H, m, 5′-H),7.24(1H, m, 6′-H),6.35(1H, d, *J*=16.0Hz, α-H),7.49(1H, d, *J*=16.0Hz, β-H),4.46(1H, d, *J*=8.0Hz, 1″-H),3.05(1H, t, *J*=8.4Hz, 2″-H),3.24(1H, t, *J*=8.6Hz, 3″-H),3.14(1H, d, *J*=8.1Hz, 4″-H),3.18(1H, dd, *J*=5.8, 2.1Hz, 5″-H),3.55(1H, dd, *J*=12.5, 5.8Hz, 6″-H),3.77(1H, dd, *J*=12.5, 2.1Hz, 6″-H)。

^{13}C-NMR(δ ppm):95.1(d, C-1),144.3(d, C-3),107.3(d, C-4),73.8(s, C-5),78.1(d, C-6),46.6(t, C-7),89.2(s, C-8),56.0(d, C-9),23.0(q, C-10),136.2(s, C-1′),130.4(d, C-2′),129.6(d, C-3′),131.9(d, C-4′),129.6(d, C-5′),130.4(d, C-6′),120.5(d, C-α),146.5(d, C-β),169.2(s, CO);100.4(d, C-1″),75.0(d, C-2″),78.5(d, C-3″),72.0(d, C-4″),78.0(d, C-5″),63.4(t, C-6″)。

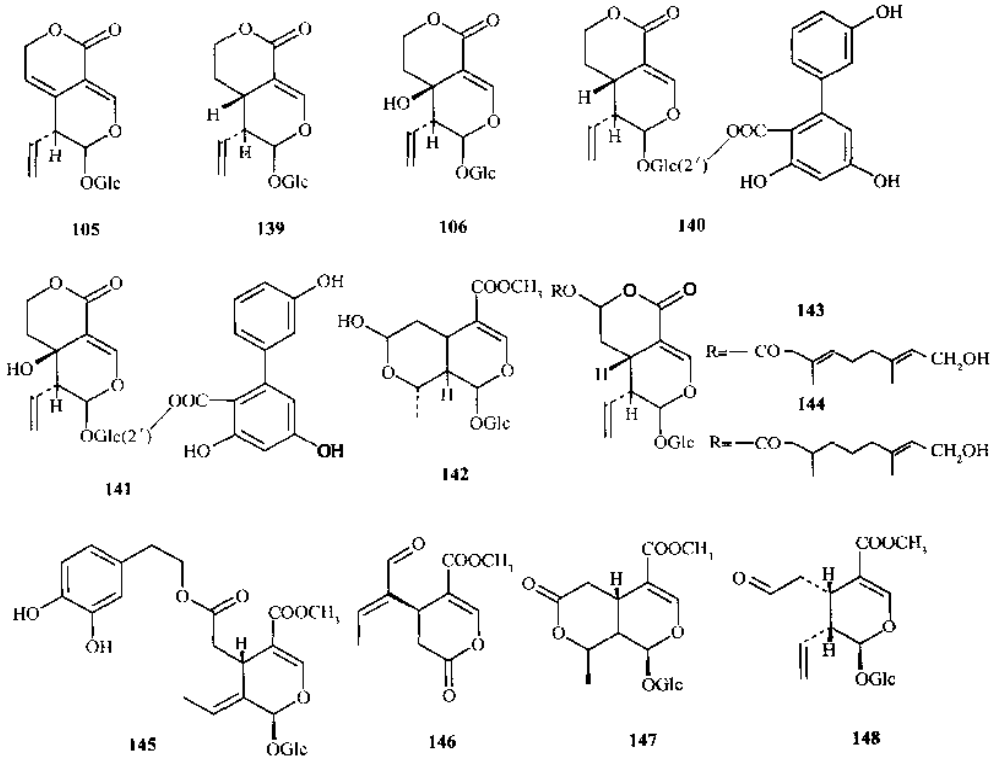
2. 裂环环烯醚萜及其苷类

裂环环烯醚萜化合物在龙胆科(Gentianaceae)植物中发现最多,尤其是龙胆属 *Gentiana* 和獐芽菜属 *Swertia* 植物中更为普遍存在,龙胆苦味素类可作为裂环环烯醚萜苷的代表。例如,龙胆苦苷(gentiopicroside 或 gentiopicrin,**105**)、獐牙菜苷(sweroside,**139**)、獐牙菜苦苷(swertiamarin,**106**)、苦龙胆苷(amarogentin,**140**)、苦獐牙(amaroswerin,**141**),以及莫诺苷(morroriside,**142**)等。

睡菜(*Menyanthes trifoliata* L.)的叶和根茎都含有苦味成分,由其根茎中曾分离出两种裂环环烯醚萜苷类成分称为睡菜苷(foliamenthin,**143**)、二氢睡菜苷(dihydrofoliamenthin,**144**),均为苦味成分。

由洋橄榄(*Olea europoea* L.)叶中分离出的油橄榄苦苷(oleuropein,**145**),据报道有降低血压的作用,另一成分洋橄榄内酯(elenolide,**146**)也有降血压活性。

还有金吉苷(kingiside,**147**)和忍冬苦苷(loniceroside,**148**)均为类似的苦味苷成分,同样具有苦补健胃的功效。



龙胆苦苷(**105**)为白色结晶体,由 50% 乙醇中结晶出的带有半分子结晶水,如果由乙酸乙酯中重结晶则得无水物;熔点 191℃(121℃,半水合物),$[\alpha]_D$ - 196.3°(H_2O),$[\alpha]_D^{20}$ - 199°(EtOH)。易溶于甲醇,难溶于水。具有强烈的苦味,虽稀释至 1:12 000 的水溶液仍有显著的苦味。

测定龙胆苦苷的结构时曾遇到过不少困难,因为龙胆苦苷酸水解时生成葡萄糖和龙胆苷元(gentiogenin),该苷元不是龙胆苦苷的真正苷元而是其二聚体,酶解时则生成中龙胆苷元(mesogentiogenin),此物也非龙胆苦苷的真正苷元,无旋光性,且性质不稳定,遇酸即转变为另一异构体,优龙胆苦苷元(eugentiogenin),这些水解产物无法为正确确定龙胆苦苷的结构提供有效的结构信息。到 1968 年,在研究环烯醚萜苷类苦味素时,经过部分合成的方法,才确证了龙胆苦苷的结构[71]。

龙胆苦苷的各光谱数据如下[72~75]:

UV λ_{max} nm:270,255(sh),245(sh)。

FABMS(m/z):357($[M+H]^+$),193($[M\text{-}Glc]^+$)。

^{1}H-NMR(δ ppm):5.65(1H, d, J=3.0Hz, 1-H),7.44(1H, d, J=1.5Hz, 3-H),5.61(1H, m, 6-H),

5.07(1H, m, 7-H),4.97(1H, m, 7-H),5.74(1H, ddd, J=17.5, 10.5, 7.0Hz, 8-H),3.15(1H, ddd, J=7.0, 1.5Hz, 9-H),5.20(1H, ddd, J=10.5, 1.5, 1.5Hz, 10-H),5.23(1H, ddd, J=17.1, 5.1, 5.0Hz, 10-H),4.60(1H, d, J=8.0Hz, 1′-H),3.20(1H, dd, J=9.0, 8.0Hz, 2′-H),3.30～3.40(2H, m, 3′-H, 4′-H),3.45(1H, m, 5′-H),3.65(1H, dd, J=12.0, 6.0Hz, 6′-H),3.85(1H, dd, J=12.0, 2.0Hz, 6′-H)。

^{13}C-NMR(δ ppm):98.5(d, C-1),150.4(d, C-3),104.4(s, C-4),125.2(s, C-5),117.8(d, C-6),71.2(t, C-7),133.9(d, C-8),45.4(d, C-9),119.5(t, C-10);167.5(s, C-11),99.6(d, C-1′),73.3(d, C-2′),76.5(d, C-3′),70.3(d, C-4′),77.1(d, C-5′),61.6(t, C-6′)。

第六节 不规则单萜化合物

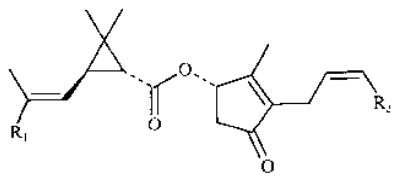
有很多天然单萜化合物的骨架结构,虽然是从异戊二烯 C_5 单元衍生而来,由于发生分子骨架重排,所以不符合首尾相连的异戊二烯规则,被归类为不规则单萜化合物(irregular monoterpenes),这类化合物主要集中于菊科植物中,如除虫菊酯类、紫罗兰酮及其类似物、卓酚酮类等。

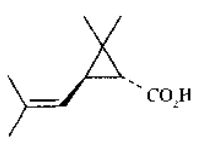
一、除虫菊酯类化合物

除虫菊酯(pyrethrins,**149～154**)是来源于菊科植物除虫菊[*Pyrethrum cinerariaefolium* 或 *Chrysanthemum cinerariaefolium*(Compositae)]干花提取物,除虫菊酯(pyrethrin Ⅰ,Ⅱ)、瓜菊酯(cinerin Ⅰ,Ⅱ)、茉莉菊(jasmolin Ⅰ,Ⅱ)是具有极强活性的 6 个杀虫物质的总称[76]。

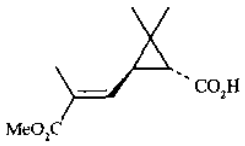
天然除虫菊酯是接触型毒药,它能迅速穿透昆虫的神经系统。施用几分钟后,昆虫就不能移动,也不能飞走,但是,导致麻痹的剂量并不是致命的剂量。天然除虫菊酯的毒性会很快被昆虫体内的酶分解。因此,有的害虫会很快恢复,为了延缓酶的作用,氨基甲酸盐或加强剂被和除虫菊酯一起使用。

除虫菊酯类化合物可经皂化后,得到相应的酸(**155～156**)和醇(**161～163**),然后再分别进行结构分析。



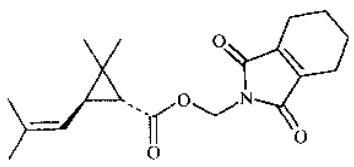


155

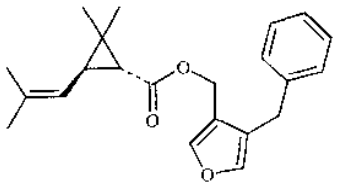


156

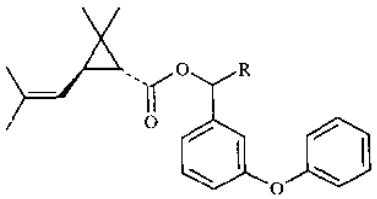
	R_1	R_2
pyrethrin Ⅰ (**149**)	Me	CH—CH_2
pyrethrin Ⅱ (**150**)	CO_2Me	CH—CH_2
cinerin Ⅰ (**151**)	Me	Me
cinerin Ⅱ (**152**)	CO_2Me	Me
jasmolin Ⅰ (**153**)	Me	Et
jasmolin Ⅱ (**153**)	CO_2Me	Et



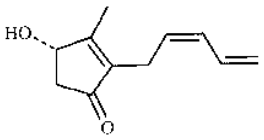
157



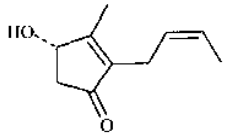
158



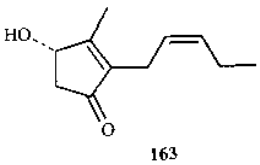
permethrin (**159**) R=H
cypermethrin (**160**) R=CN



161



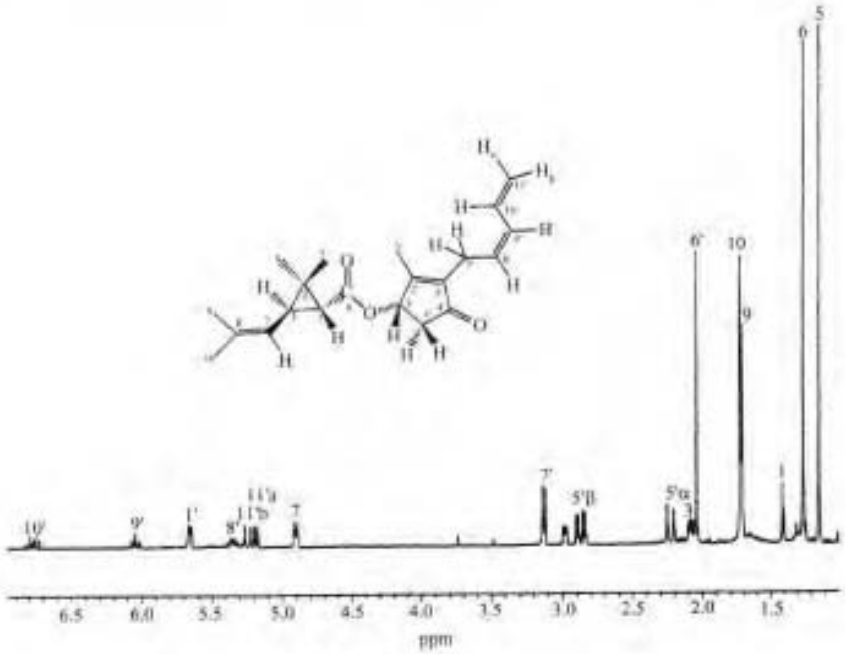
162



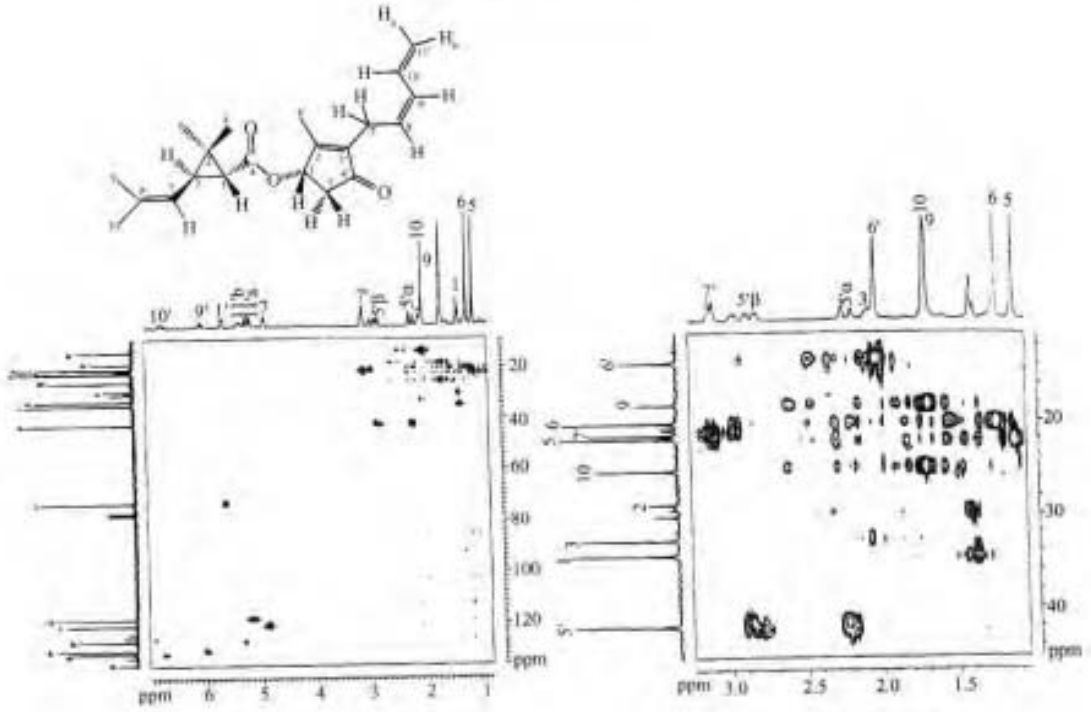
163

菊花酸性成分的半合成衍生物也被开发为杀虫剂，这些成分被称为拟除虫菊酯，如化合物**157～160**。在此类天然杀虫物质上发展起来的拟菊酯类仿生农药，则已有近 30 种投产，约占杀虫剂市场的 18%。天然除虫菊酯对哺乳动物的毒性小，拟除虫菊酯的功效更强。一种常用的合成拟除虫菊酯是丙烯菊酯。

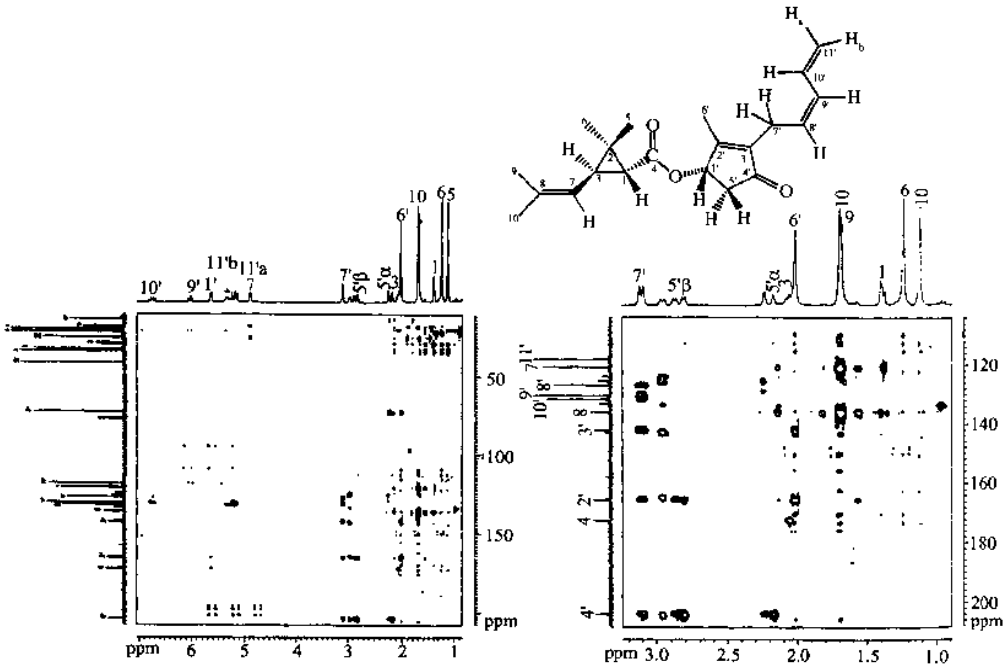
Bramwell 等对天然除虫菊酯的 ^{1}H-NMR 进行了详尽的研究[77]。最近 Rugutt 等又对其进行了二维 NMR 研究[78]：



除虫菊酯 I 的 400 MHz ^{1}H-NMR 谱



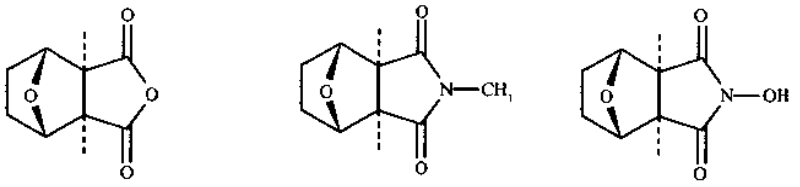
(a) 除虫菊酯 I 的 ^{1}H-^{13}C HMQC 谱　　(b) 除虫菊酯 I 的 ^{1}H-^{13}C HMQC 高场区放大谱



(a) 除虫菊酯Ⅰ的^{1}H-^{13}C HMBC谱　　(b) 除虫菊酯Ⅰ的^{1}H-^{13}C HMBC高场区放大谱

二、斑　蝥　素

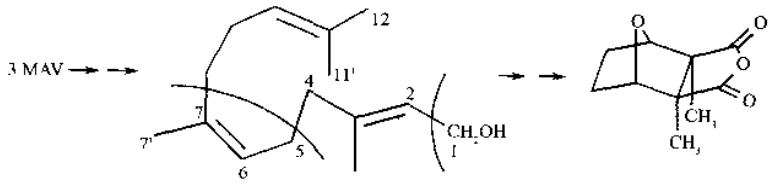
斑蝥素(cantharidin,**164**),芫菁科(地胆科)昆虫斑蝥(*Mylabris sidae*)的成虫和幼虫体内所含的一种单萜类成分,并广泛存在于同属其他昆虫中[79]。我国报道斑蝥素的抗肿瘤作用早于国外,1975年上海斑蝥协作组肯定了斑蝥素为抗癌有效物质,除对治疗原发性肝癌有明显疗效外,还可以治疗白细胞减少、慢性肝炎和神经性皮炎等。近年来我国对斑蝥素的临床应用研究表明:斑蝥素及其衍生物,如甲基斑蝥胺(*N*-methylcantharidimide,**165**)、羟基斑蝥胺(*N*-hydroxylcantharidimide,**166**)等对治疗原发性肝癌疗效显著,明显优于手术治疗和放疗。



164　　**165**　　**166**

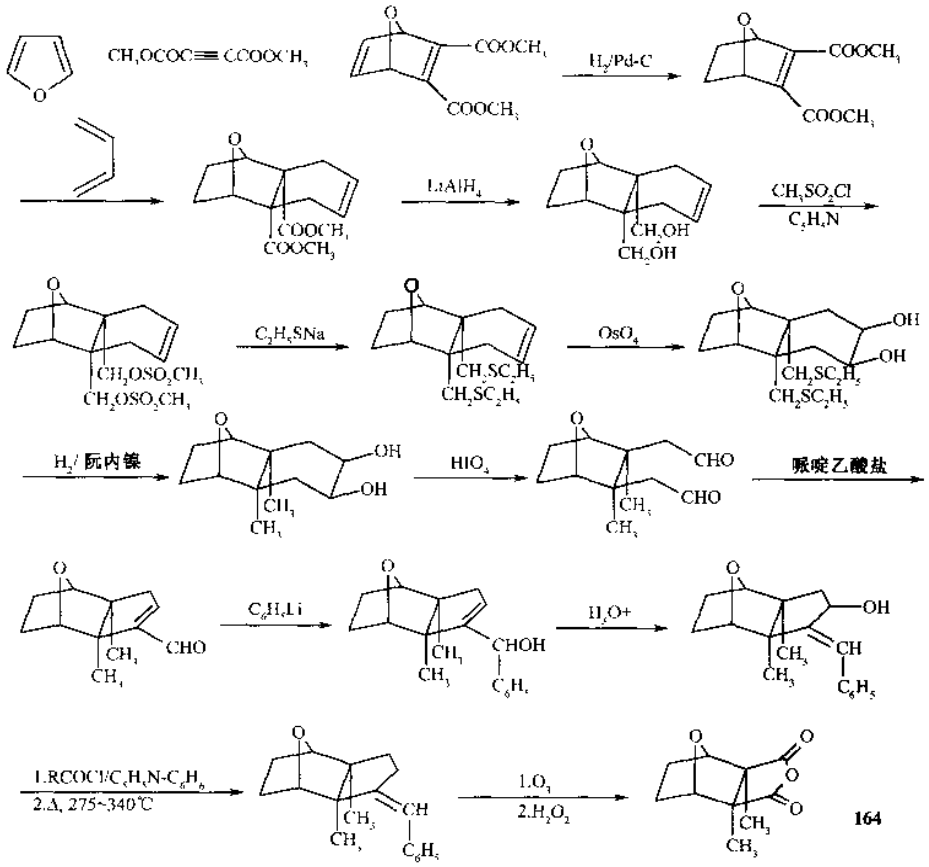
十分有趣的是斑蝥素并不源自单萜,原来的单萜生源假设证明是错误的,关于斑蝥素生物合成的知识,应归功于苏黎世大学的Schmid小组的研究[80]。Schlatter等在喂饲试验中证明斑蝥素不是由两个异戊二烯单元首尾连接而成。他们提出了三个异戊二烯单元参与了斑蝥素的合成。他们清楚地证实金合欢醇(farnesol,**167**)是斑蝥素的生源前体,金合欢醇的1、5、6、7和7′碳原子在斑蝥素生物合成过程中消除,同时2、4、11′及12碳原子加入。斑蝥素的优势前体是全反式金合欢醇。因此证明斑蝥素源自于倍半萜。

斑蝥素(**164**)是具有显著刺激性的化合物,呈斜方形鳞状晶体,熔点218℃。不溶于冷水,溶于热水,难溶于丙酮、氯仿、乙醚、乙酸乙酯。



167 164

1953 年，哈佛大学的 Stork 等[81]立体选择性地合成了斑蝥素：



参 考 文 献

[1] Templeton W. An Introduction to the Chemistry of Terpenoids and Steroids, London: Butter-worth, 1969

[2] Grayson D H. Nat Prod Rep, 1997, 14: 477

[3] Grayson D H. Nat Prod Rep, 1998, 15: 439

[4] Grayson D H. Nat Prod Rep, 2000, 17: 385

[5] Ccharlwood B V et al. Methods in Plant Biochemistry. London: Academic Press, 1991, 7: 43

[6] Mookherjee B D et al. Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology. New York: John Wiley, 1996, 4, 17: 603

[7] 高致明等. 河南农业大学学报, 1997, 31: 391

[8] Walradt J P et al. Practice Chromatogr. Philadelphia: Pennsylvania, 1979, 18th

[9] Hanna A et al. J Chromatogr Sci, 1979, 17: 435

[10] Buchbauer G et al. Mod Methods Plant Anal, 1997, 19: 97

[11] 丛浦珠等. 分析化学手册. 第九分册. 质谱分析. 北京: 化学工业出版社, 2000, 840, 843, 863

[12] 于德泉等. 分析化学手册. 第七分册. 核磁共振波谱分析. 北京: 化学工业出版社, 1999, 319

[13] 于德泉等. 分析化学手册. 第七分册. 核磁共振波谱分析. 北京: 化学工业出版社, 1999, 754

[14] Fereira M J P et al. Prog Nucl Magn Reson Spectrosc, 1998, 33: 153

[15] Gildemeister E et al. Die Aetherische Oele, Vol Ⅲa, Berlin: Akademie-Verlag, 1960
[16] Ohloff G et al. Fortschr Chem Forsch 1969, 12: 185
[17] Thomas A F. The Total Synthesis of Natural Products, New York, Wiley, 1973, 2: 1
[18] Dudley Sully B. Chem Ind(London), 1964: 263
[19] Teisseire P et al. Fr Ses Parfums, 1965, 8: 233
[20] Ansari H R. Flavour Ind, 1970, 1: 252
[21] Pommer H et al. Pure Appl Chem, 1975, 43: 527
[22] Hoffmann W. Seifen Oele Fette Wache, 1975, 101: 89
[23] Thomas A F. Specialist Periodical Report on Terpenoids and Steroids, London: Chemical Society, 1970～1975
[24] Nederlof P. PhD thesis. The Netherlands: University of Amssterdam, 1978
[25] Pickard R H et al. J Chem Soc, 1912: 109
[26] Russell E L et al. U S Patent, 1965, 3: 201, 455
[27] Schmidt H. Riechst Aromen, 1957, 7: 161
[28] Read J et al. J Chem Soc, 1931: 188
[29] Read J et al. British Patent, 1933, 397: 212
[30] Nohira H et al. Nippon Kagaku Kaishi, 1975: 1122
[31] Nohira H et al. Jpn Kokai Tokkyo Koho, 1976, 36: 439
[32] Nohira H et al. Jpn Kokai Tokkyo Koho, 1977, 59: 133
[33] Doi T et al. Jpn Kokai Tokkyo Koho, 1974, 36: 226
[34] Epstein M B et al. U S Patent, 1967, 3: 305, 551
[35] Oritani T et al. Agric Biol Chem, 1973, 37: 1687
[36] Fleischer J et al. Ger Offen, 1972, 2: 109, 456
[37] Arctender S. Perfume and Flavor Chemicals, New Jersey: Montclair, 1969
[38] Sivopoulou A et al. J Agric Food Chem, 1996, 44: 1202
[39] Leitereg T J et al. Nature, 1971, 230: 455
[40] Russell G F et al. Science, 1971, 172: 1043
[41] Friedman L et al. Science, 1971, 172: 1044
[42] Bohlmann F et al. Org Magn Reson, 1975, 7: 426
[43] Tian J et al. Chin Chem Lett, 1996, 7: 341
[44] Ono M et al. Chem Pharm Bull, 1996, 44: 337
[45] Kitajima J et al. Chem Pharm Bull, 1998, 44: 1583
[46] Ishikawa T et al. Chem Pharm Bull, 1998, 46: 1738
[47] Nakajima T. Yakugaku Zasshi, 1962, 82: 1278
[48] Carreiras MC et al. Phytochemistry, 1987, 26: 3351
[49] Aimi N et al. Tetrahedron, 1969, 25: 1825
[50] 郎惠英等. 药学学报, 1983, 18: 551
[51] Yu J et al. Phytochemistry, 1990, 29, 3859
[52] Lang H Y et al. Tetrahedron, 1990, 46: 3123
[53] 张晓燕等. 沈阳药科大学学报, 2001, 18: 30
[54] 张晓燕等. 沈阳药科大学学报, 2001, 18: 27
[55] Orihara Y et al. Phytochemistry, 1993, 34: 1045
[56] Ryhage R et al. Acta Chem Scand, 1963, 17: 2025
[57] Orihara Y et al. Phytochemistry, 1994, 36: 55
[58] Ryhage R et al. Acta Chem Scand, 1963, 18: 475
[59] Wehrli F W et al. Chem Org Natur, 1979, 36: 1
[60] Abraham R J et al. Org Magn Reson, 1974, 6: 184
[61] Waller G R. Progress in the Chemistry of Fats and other Lipids. Oxford: Pergamon Press, 1970, X: 151
[62] Pagnoni U M et al. Aust J Chem, 1976, 29: 1375
[63] Bottini A T et al. Phytochemistry, 1987, 26: 1200
[64] Eickstedt K W. Arzneim-Forsch(Drug Res.), 1969, 19: 995
[65] Eickstedt K W et al. Arzneim-Forsch(Drug Res.), 1969, 19: 316
[66] Tomassini L et al. Phytochemistry, 1997, 46: 901
[67] Inouye H et al. Tetrahedron Lett, 1968, 44: 683

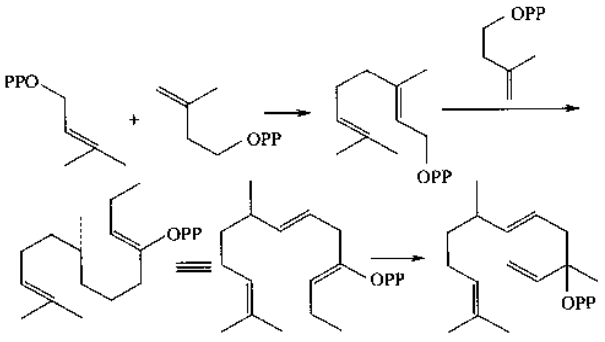
[68] Inouye H et al. Chem Pharm Bull, 1969, 17: 1942
[69] Suzuki S et al. Heterocycles, 1993, 35: 895
[70] Li Y M et al. Phytochemistry, 1998, 50: 101
[71] Inouye H et al. Tetrahedron Lett, 1968, 44: 4429
[72] Bock K et al. Acta. Chem Scand. Ser B, 1976, 30: 743
[73] Eickstedt K W et al. Planta Med, 1984, 50: 398
[74] Wang, C Z et al. Phytochemistry, 1997, 45: 1483
[75] Mpondo E M et al. Planta Med, 1988, 54: 185
[76] Metcalf, R L. Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology. New York: John Wiley, 1995, 14: 524
[77] Bramwell A F et al. Tetrahedron, 1968, 25: 1727
[78] Inouye H et al. J Agric Food Chem, 1999, 47: 3402
[79] 谭娟杰等. 昆虫学报, 1995, 38: 324
[80] Schlatter C et al. Experientia, 1968, 24: 994
[81] Stork G et al. J Am Chem Soc, 1953, 75: 384

（杨益平）

第六章　倍半萜类

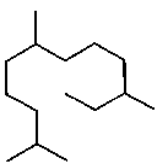
萜类是天然有机化合物中的一个重要组成部分，它是由不同个数的异戊烯首尾相接构成，其中以三个异戊烯构成的为倍半萜，倍半萜广泛存在于植物、微生物、海洋生物及某些昆虫中，其中很多具有重要的生物功能和生理活性，特别是倍半萜内酯，具有诸如抗菌、抗肿瘤、抗病毒、细胞毒、免疫抑制、植物毒、昆虫激素、昆虫拒食等作用，也有一些具有神经系统活性。很多倍半萜是芳香油高沸点部分的主要成分，对芳香油的香味起着重要作用。从化学角度来看，虽然倍半萜骨架仅有 15 个碳原子，但由于生物体内微妙的代谢过程而生成形形色色基本骨架的化合物，并有复杂的立体结构。其化学及光谱研究分别于 20 世纪 60 年代和 70 年代达到高潮，因而成为植物成分中重要的一类。有关的专著及综述已有很多[1~8]，本章主要介绍有关倍半萜的化学类型、生理作用、提取分离、化学反应、光谱解析及结构测定。

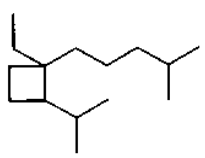
倍半萜类的生物合成已有很多综述介绍，主要由三分子异戊二烯二磷酸酯连接构成法呢基二磷酸酯(farnesyl diphosphate, FPP **1**)，FPP 经重排可成橙花烯二磷酸酯(nerolidyl diphosphate, NPP **2**)，从 FPP 和 NPP 经一系列环化、氧化和其他天然存在的衍生化修饰过程，而形成一系列不同骨架的倍半萜，其生源过程 D. E. Cane 已做了全面评述[9]。

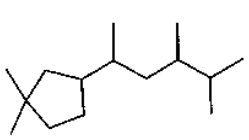


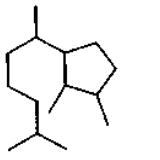
第一节　倍半萜的化学分类及结构关系

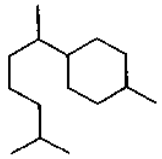
倍半萜类型中，个别由 C_{14} 或 C_{16} 组成，也有个别不按三分子异戊烯排列，这些大部分是从海洋生物中取得，均为经过生物体内进一步代谢生成。倍半萜是由三分子异戊烯以不同连接方式形成，基本骨架复杂多样，大体可归纳如下：

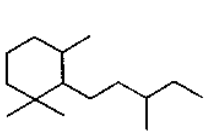

金合欢烷 farnesane (3)

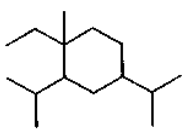

normaaliane (4)

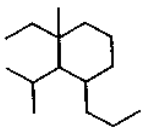

secolactarane (5)

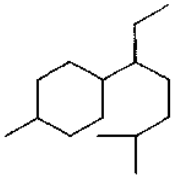

环橙花烷 cyclonerane (6)


没药烷 bisabolane (7)

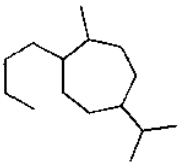

monocyclofarnesane (8)


榄烷 clemane (9)

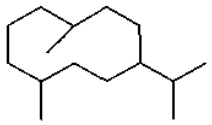

arnstophyllane (10)



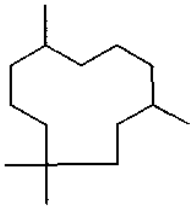
sesquibinane (11)



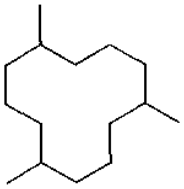
裂环愈创木烷secoguaiane (12)



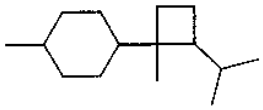
germacrane (13)



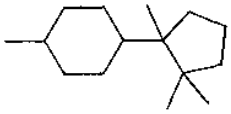
蒎草烷humulane (14)



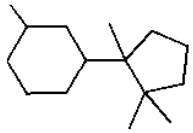
马兜铃萜烷酸aristoterpane (15)



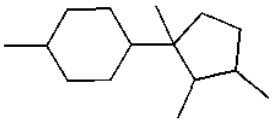
barbalane(cunniane) (16)



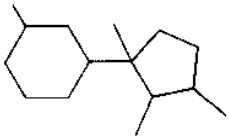
花侧柏烷cuparane (17)



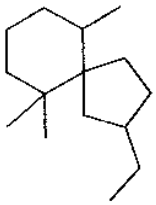
isocuparane(herbatane) (18)



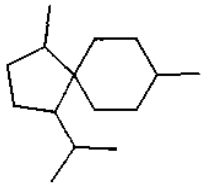
月桂烷laurane (19)



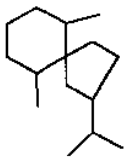
异月桂烷isolaurane (20)



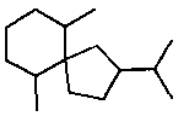
spirolaurane (21)



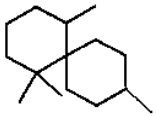
菖蒲烷acorane (22)



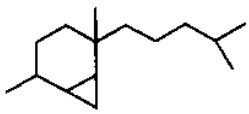
phytoalexane (23)



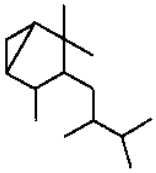
vertispirane (24)



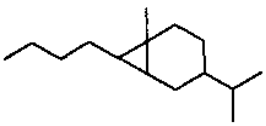
chamigrane (25)



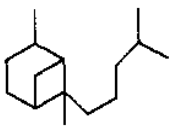
chenopodane (26)



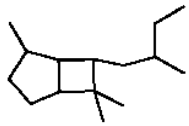
spiroaxane (27)



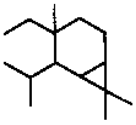
carabrane (28)



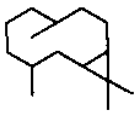
佛手柑烷bergamotane (29)



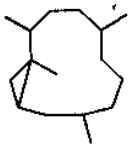
raikovane (30)



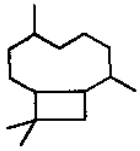
二环榄烷bicycloelemane (31)



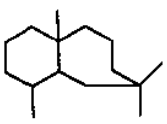
bicyclogermacrane (32)



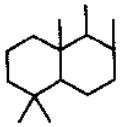
madolane (33)



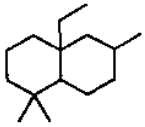
石竹烷caryophyllane (34)



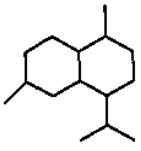
二环蒎草烷bicyclohumulane (35)



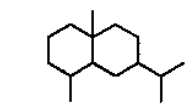
bicyclofarnesane(drimane) (36)



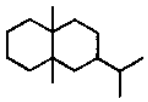
isoacanthodorane (37)



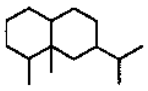
杜松烷cadinane (38)



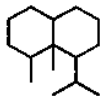
桉叶烷eudesmane(selinane) (39)



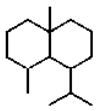
缬草烷valerane (40)



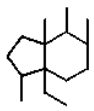
eremophilane(velivane) (41)



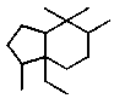
mordosinane (42)



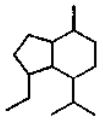
gorgonane (43)



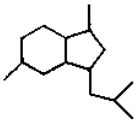
prezizaane (44)



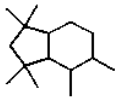
secoprezizaane (45)



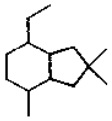
oplopanane (46)



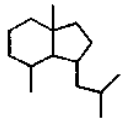
mutisianthane (47)



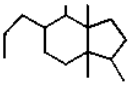
botrydiane (48)



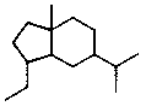
alliacane (49)



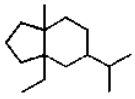
oppositane (50)



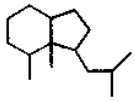
pinguisane (51)



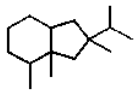
iphionane (52)



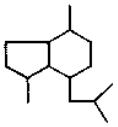
cyperane (53)



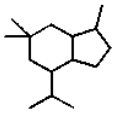
chiloscyphane (54)



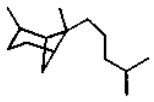
bakkane (55)



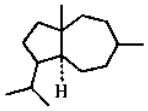
velerenane (56)



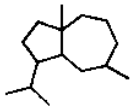
brasilane (57)



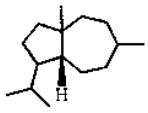
massarinolane (58)



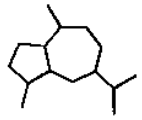
daucane (59)



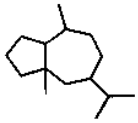
isodaucane (60)



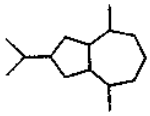
carotane (61)



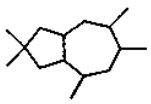
愈创木烷guaiane (62)



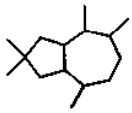
伪愈创木烷pseudoguaiane (63)



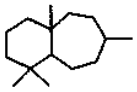
bicyclovetivane (64)



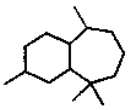
lactarane (65)



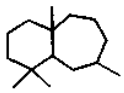
tremulane (66)



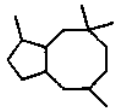
widdrane (67)



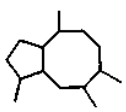
himachalane (68)



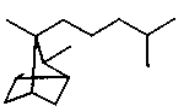
allohimachalane (69)



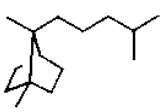
precapnellane (70)



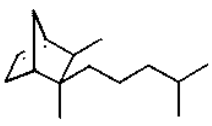
dumortane (71)



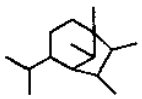
α-檀香烷 α-santalane (72)



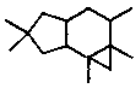
campherenane (73)



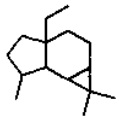
β-檀香烷 β-santalane (74)



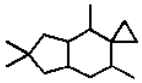
helminthosporane (75)



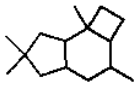
marasmane (76)



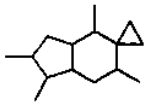
ladaniferane (77)



illudane (78)

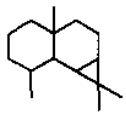


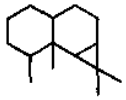
protoilludane (79)



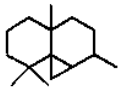
illudalane (80)

橄榄烷maaliane (81)

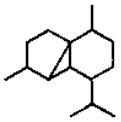




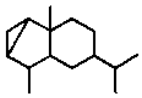
aristolane (82)



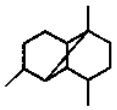
柏烷thujopsane (83)



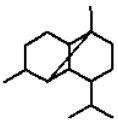
毕澄茄烷cubebane (84)



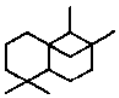
乌药烷lindenane (85)



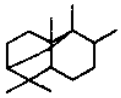
依兰烷ylangane (86)



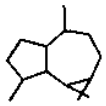
copaan (87)



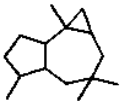
acanthodorane (88)



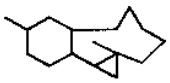
valarianane (89)



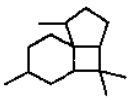
aromadendrane (90)



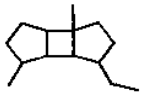
africanane(asteriscane) (91)



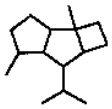
benkarlane (92)



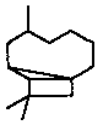
italicane (93)



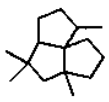
prespalane (94)



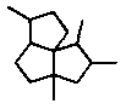
kelsoane (95)



环石竹烷cyclocaryophyllane (96)



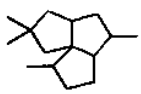
phomalairdane (97)



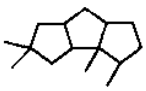
silphiperfolane (98)



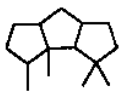
modhephane (99)



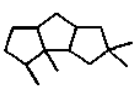
pentalenane (100)



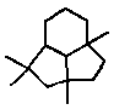
hirsutane (101)



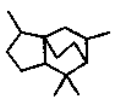
capnellane (102)



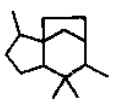
cucumane (103)



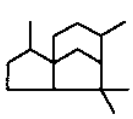
presilphiperfolane (104)



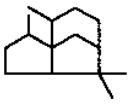
duprezianane (105)



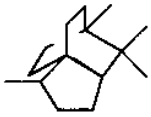
prezizaane (106)



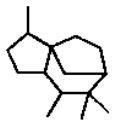
雪松烷cedrane (107)



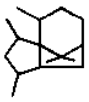
异雪松烷isocedrane (108)



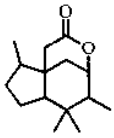
allocedrane (109)



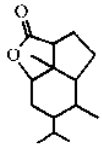
zizaane (110)



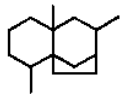
pardaliane (111)



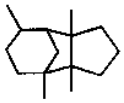
莽草烷anisatane (112)



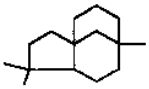
苦味毒烷picrotoxane (113)



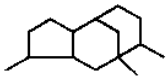
nudenane (114)



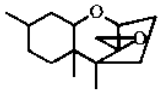
gymnomitrane (115)



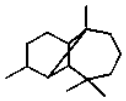
clovane (116)



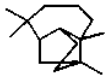
nordumortane (117)



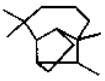
trichothecane (118)



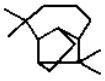
longipinane (119)



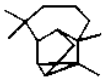
longiborane (120)



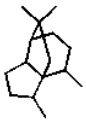
长松叶烷longifolane (121)



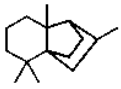
异长松叶烷isolongifolane (122)



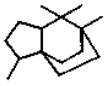
longicyclane (123)



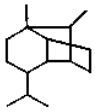
quadrane (124)



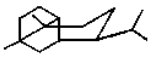
myltaylane (125)



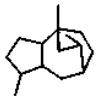
khusiane (126)



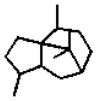
sativane (127)



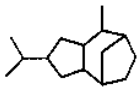
copabornane (128)



rotundane (129)



patchoulane (130)



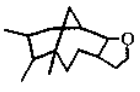
tricyclovetivane (131)



ishwarane (132)



trachapsane (133)



isonakafurane(134)

倍半萜中有很多具有内酯型结构，总称倍半萜内酯，倍半萜内酯总的起源于愈牛儿内酯(germacranolide，**135**)，其结构再进一步演化成后列多种结构类型的化合物：(elemanolide，**136**)、开环桉叶内酯(seco-eudesmanolide，**137**)、桉叶内酯(eudesmanolide，**138**)、eremophilanolide(**139**)、蜂斗菜内酯(bakkenolide，**140**)、愈创木内酯(guaianolide，**141**)、开环愈创木内酯(seco-guaianolide，xanthanolide，**142**)、3，4 开环伪愈创木内酯(3，4-seco-pseudoguaianolide，**143**)、开环愈牛内酯(seco-germacranolide，**144**)、伪愈创木内酯(pseudoguaianolide，**145**)、4，5-开环伪愈创木内酯(4，5-seco-pseudguaianolide，**146**)、杜松内酯(cadinanolide，**147**)、chry-

moranolide(**148**)。它们的结构关系如图 6-1 所示。

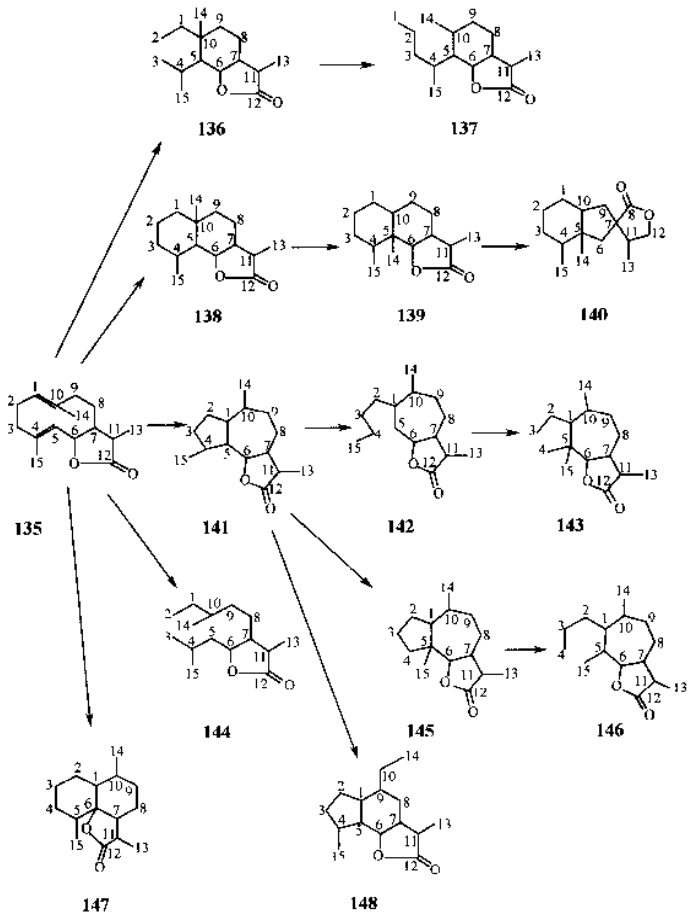
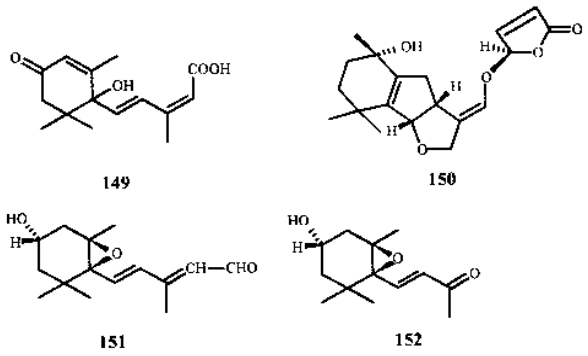


图 6-1　倍半萜的结构关系

此外，还有一系列倍半萜类化合物起源于胡萝卜烃，由胡萝卜烃经氧化降解而形成，如 abscicic acid (**149**)、strigol(**150**)、xanthoxin(**151**)和(**152**)等类，以及它们的衍生物。



从海洋生物中寻找新化合物和新生理作用物质及开发新药，是近 20 年来普遍关注的发展方向。特别是近十多年来，随着航海技术的发展而进展迅速。海洋生物的化学成分中具有不少结构奇特的倍半萜及含 Cl、Br、NC、SCN 等的化合物，这些在陆地植物中极为少见，它们中也有一些含有 C_{15}的化合物不属于由三个异戊烯构成，而是从脂肪酸代谢形成。也有一些为 C_{14}或 C_{16}系倍半萜经裂环或重排、降解而成[10, 11]。

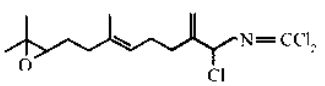
153 及其 epoxy 开裂化合物 **154** 和 **155**，这三种异腈二氯化合物是得自 *Axinyss* 属，海绵藻类红藻属

*Laurencia*的化学成分，国外研究很多。从 *L. japonica* 中分离得到含溴的炔类化合物 japonenyne A (**156**)和 B (**157**)，从另一 *Laurencia* sp. 分离得到类似的 bisezakyne A (**158**)和 B(**159**)及其衍生物，从 *L. nipponica* 得一含溴的 allene 化合物 kumausallene(**160**)，从希腊产的 *L. obtusa* 及其同属藻类中分离得到 laurencienyne B (**161**)和(**162**)，laurencin(**163**)及九元环的 obtusenyne(**164**)及它们的多种同系物。

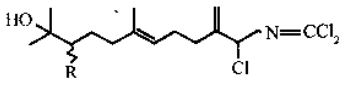
从裸鳃类软体动物 *Phyllidiiae* 属中分离得到异腈化合物 isocyanotheonelliin (**165**)，从 *Phyllidiiae pustulosa* 中分离得到 **174** 和从同科 *Reticulidia fungia* 中分离得到细胞毒成分 reticulidin A(**175**)和 B(**176**)及 10-epi-axoisonitride (**171**)和 isocyanotrachyopsane(**179**)。

从 *Laurencia* sp. 中分离得到 allolaurentinol (**166**)，和从 *L. filiformis* 分离得到 filiforminol(**167**)、algoane(**168**)及它们的多种类似物，与其结构近似的 ibhayinol(**169**)则得自南非海兔 *Aplysia dactylomela*。

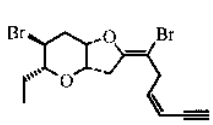
从 *Laurencia nipponica* 得 laurencial (**170**)，从 *L. claviformis* 中分离得到 claviol (**173**)和(**172**)等多种同类化合物。从海绵 *Acanthella cavernosa* 分离得到两种倍半萜 SCN 化合物 **177**、**178**。从海绵 *Ciocalypta* sp. 中分离得到两种骨架奇特的 9-isocyano-reopupukeanane (**180**)和 4-thiocyanato-reopupukeanane (**181**)。



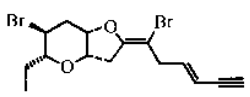
153



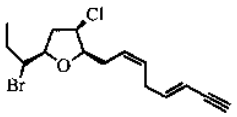
154 R=α-OH
155 R=β-OH



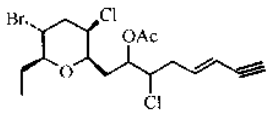
156



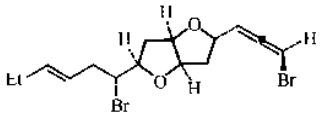
157



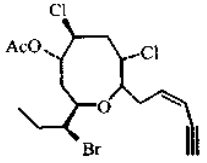
158



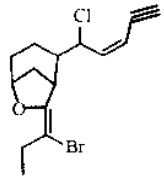
159



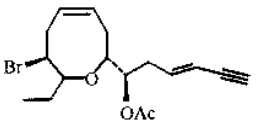
160



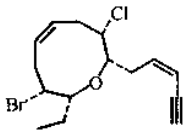
161



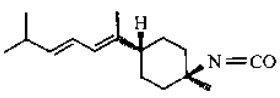
162



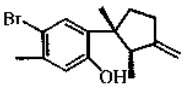
163



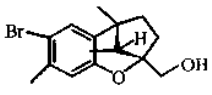
164



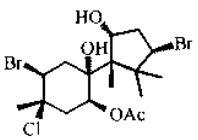
165



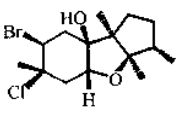
166



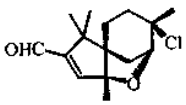
167



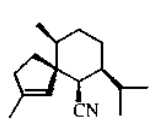
168



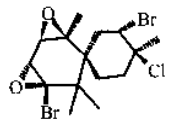
169



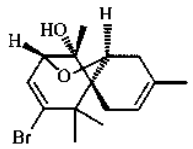
170



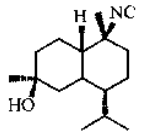
171



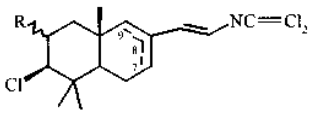
172



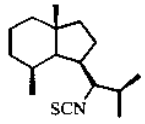
173



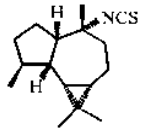
174



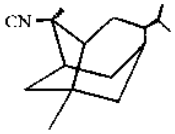
175 R=α-OH, $\Delta^{9,11}$
176 R=β-OH, $\Delta^{9,11}$



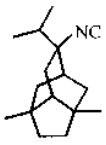
177



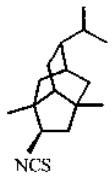
178



179



180



181

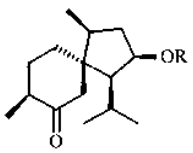
第二节 倍半萜类的生理作用

植物中存在的一切成分，广义地说都有其存在的意义，有营养成分及有关生物合成的基础物质，有生长发育的调节和控制物质(促进生长和抑制生长的物质)，有生长过程中的代谢产物。其中有些有强烈毒性、苦味或辛辣味，以防止昆虫吞食及用于生物的生存竞争。另外，对人类而言，人虽然是肉草杂食，但从人的食物结构来看，相对植物性食物占得比例较高，而人体的很多微量的重要生理作用物质往往是直接或间接得自食物。因此很多植物成分具有潜在的研究利用价值。倍半萜是植物中的常见成分，当然也有其植物生理方面的意义，现将其主要生理作用做一简单介绍。

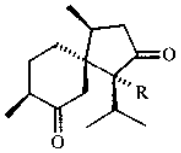
一、植物生长发育的控制物质

脱落酸(abscisic acid，ABA，**149**)，是最早从脱落的棉铃中分离得到，从 225 kg 中分离得到约 9mg，但其生理作用极强，以后发现它广泛存在于植物的种子、果实、叶、根和茎中。脱落酸及其类似物 xanthoxin (**151**)等主要控制植物的落叶及生长抑制、休眠、发芽等生理现象。值得注意的是，近年发现脱落酸类存在于蜂蜜中，其对人体的影响也值得注意。

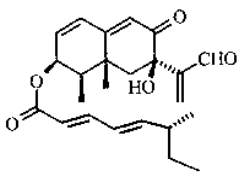
Strigol (**150**)是从棉花根的渗出液中抽提而得，它是使玄参科植物 *Striga lutea* 的种子发芽的兴奋物质。从菖蒲(*Acorus calamus*)中分离得到多种菖蒲烷 acorane 型化合物**182**～**185**。它们具有抑制莴苣类植物种子发芽的作用[12]。KM-01 (**186**)为得自真菌 *Drechslera avenae* 和 *Pycnoporus cocineus* 的倍半萜类，具



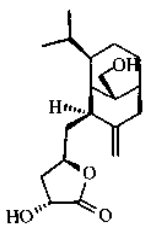
182 R=H
183 R=Ac



184 R=—H
185 R=—OH



186

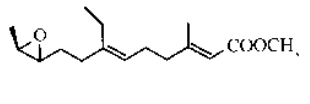


187

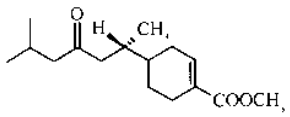
有对抗油菜内酯 brassinolide 的作用，能抑制植物生长[13]。Sorokinianin（**187**）是一种植物毒 phytotoxin，它能抑制大麦种子发芽[14]。

二、昆虫保幼激素

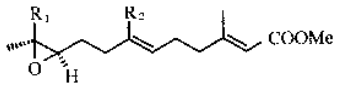
昆虫保幼激素与脱皮激素均能支配昆虫与甲壳类动物的生活循环，最早发现的是天蚕蛾保幼激素 C_{18}-cecropia（**188**）。以后发现在植物中也存在保幼激素类似物。如 juvabione（**189**）是从冷杉、枞木树胶中分离得到，同样也存在于以此作为原料的纸浆或有关纸制品中，因而最初曾被称作“纸因子”。它对无翅红椿（*Purrhocoris apterus*）具有很强的保幼作用。此外，juvenil hormone 尚有 JH-Ⅰ（**190**）、JH-Ⅱ（**191**）、JH-Ⅲ（**192**）等，以及从 *Locusta migratoria* 中得 8′-羟基和 12′-羟基 JH-Ⅲ。



188



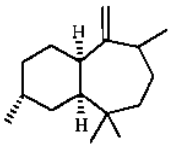
189



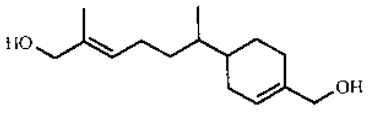
190 R_1=Et, R_2=Et
291 R_1=Et, R_2=Me
191 R_1=Me, R_2=Me

三、昆虫性引诱剂及昆虫驱避物质

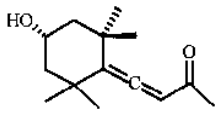
一些倍半萜类是昆虫及低等动物的性引诱剂。3-methyl-α-himachalane（**193**）为同系倍半萜 homosesquiterpene，是一种巴西双翅目昆虫白蛉（*Lutzomyia longipalpis*）的性外激素[15]。Sirenin 是从 *Allomyces sabviscula* 中分离得到的性引诱剂。其生理作用很强，其结构为 sirenin（**194**），倍半萜丙二烯酮 allenic ketone（**195**），是从蚱蜢 *P. microptera* 中分离得到的天然丙二烯酮萜类化合物。对蚂蚁及其他昆虫有驱避作用。得自 *Dysoxylum spectabile* 果实的倍半萜**195a** 也具有蚂蚁驱避作用。化合物**195b** 为雌性 *Aspidiotus neri* 产生的外激素[16]E-β-金合欢烯 *E*-β-farnesene（**196**）为蚜虫的警报外激素[17]。



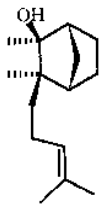
193



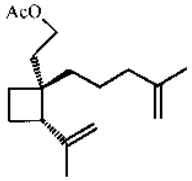
194



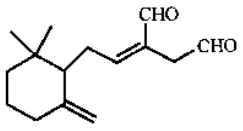
195



195a



195b



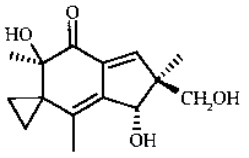
196

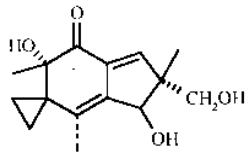
四、抗菌素类和细菌代谢产物

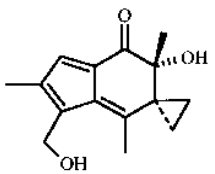
从夜光蕈（*Clitocybe illudens*）中分离得到了多种具有抗菌及抗癌活性物质，其中有代表性的为隐杯伞素 illudin S（lampterol，**197**）和隐杯伞素 Illudin M（**198**）[18]，二者均有较强的抗肿瘤作用。隐杯伞素类目前也是较受关注的天然抗癌物质之一。其类似物 hydroxymethylacylfulvene（**199**）已进入抗癌临床试验[19, 20]。隐杯伞素酸（**200**）是得自真菌 MF6186 的抗菌倍半萜[21]。fumagillin（**201**）是从 *Aspergillus fumigatus* 中分离得到的抗菌抗寄生虫及抗肿瘤的活性物质。

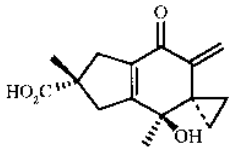
trichothecin (**202**)最早是从疣孢漆斑菌 *Myrothecium* 属及从 *Trichothecium*、*Trichoderma* 等属细菌分离得到的细菌产物，具有抗菌、抗霉菌和抗肿瘤活性，形成了萜类中具有重要生理作用的一类，本类化合物从菊科植物中也能分离得到，如从紫菀族 Asteraceae 的 *Baccharis megapotamica* 中分离得到其一系列酯类[22]。主要有 baccharin (**203**)、isobaccharin (**204**)、baccharinol (**205**)、isobaccharinol (**206**)等。

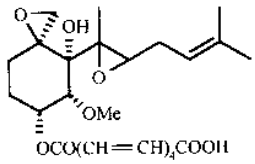
trichothecin 的大环内酯类化合物均有强烈的细胞毒作用，有抗白血病作用，对小白鼠 P-388、KB 细胞体外培养均有极强的抑制作用。trichothecin 类化合物如 verrucarin A 和 J、Roridin A 和 E 等对恶性疟原虫均有抑制作用，但毒性较大，很难发展为抗疟新药。

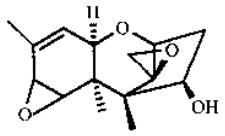

197

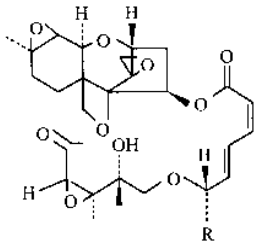

198

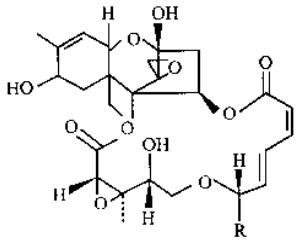

199

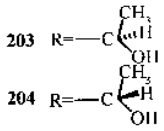

200


201

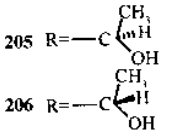

202





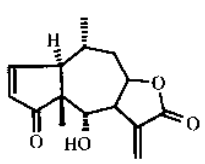

203 R=

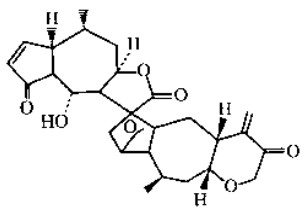
204 R=

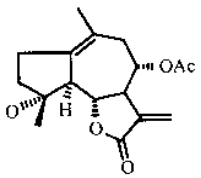

205 R=

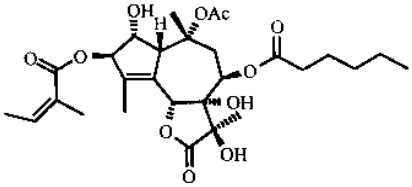
206 R=

具有细胞毒活性的倍半萜内酯目前已有 200 多种[23]，它们分别对 KB 细胞体外培养、P-388 淋巴白血病、L-1210 白血病、B-16 黑色素瘤、瓦克肉瘤 256 等模型有效。本类型化合物的细胞毒作用与结构的关系已清楚[24]，α-亚甲基-γ-内酯是细胞毒作用的主要有效基团，α，β-不饱和酮也有较强的作用。如二者并存则作用更强，具有酯侧链能增加亲脂性，细胞毒作用也增强。以丙二酸酯化连接两分子 helenalin (**207**)成双分子的 helenalin 型倍半萜 microlenin (**208**)，细胞毒作用并无质的变化[25]，本类型化合物迄今尚无一进入临床，主要原因是动物疗效并不超过其他类型抗肿瘤药，而且能产生皮肤过敏。前人发现伞形科植物 *Thapsia garganica*，古阿拉伯人用做皮肤刺激剂，从中分离得到倍半萜类化合物 arteglasin (**209**)和 thapsigarin(**210**)，二者均具有强细胞毒作用，并具有强烈的组织胺释放作用，这可能与其致过敏作用有关[26]。


207

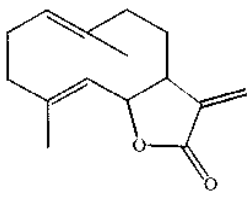

208


209

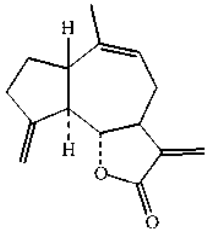

210

五、驱虫杀虫作用

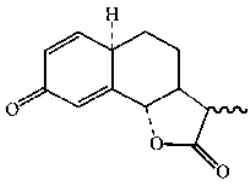
很多倍半萜类有驱虫、杀虫作用，诸如山道年(santonin，**211**)长期以来曾用作驱蛔虫药物。广木香内酯costunolide (**212**)、eremanthine(**213**)等均有杀虫作用。青蒿素 **214** 是我国发现的抗疟新药，具有速效和低毒的特点[27]，并有抗血吸虫作用，是近代倍半萜类生理作用方面的重大发现，青蒿素的过氧如经还原或重排，均不再有抗疟疾作用。该类化合物近年来被证实具有植物生长抑制作用，细胞毒作用和抗 HIV 作用[28]。*Nardostachys chinensis* 的根中的倍半萜也具有抗疟作用[29]，其作用强度相当于奎宁，但低于氯喹。得自 *Massarina tunicata* 的倍半萜**215** 具有抗疟作用[30]。



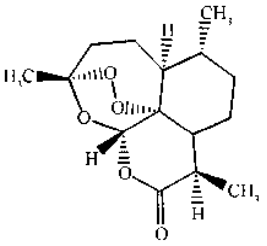
211



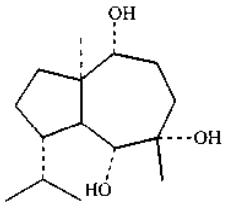
212



213



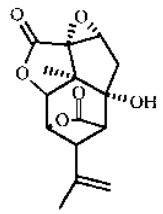
214



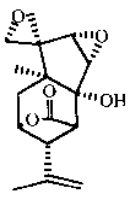
215

六、神经系统作用

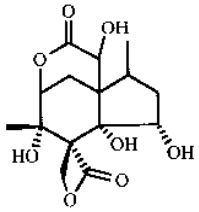
苦味毒(picrotoxin，**216**)、羟基马桑内酯(tutin，**217**)及从莽草中分离得到的剧毒成分莽草毒素(anisatin，**218**)均有中枢神经兴奋作用，与番木鳖碱一样有很强的致惊厥作用。苦味毒一般在临床主要用于巴比妥类安眠药中毒的急救，马桑内酯曾用于治疗精神分裂症。此外曾有报道称 amarilin(**219**)有镇痛作用。



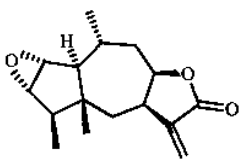
216



217

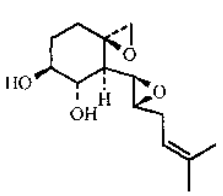


218

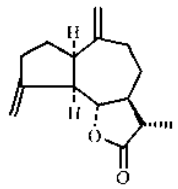


219

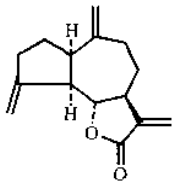
FR 65814 (**220**)为得自 *Pinicillium jensenii* F-2883 菌种[31]，其结构类似上述的 fumagillin (**201**)及其水解后的羟基化合物 fumagillol，该化合物为新颖的免疫抑制剂、毒性低，有可能用于自身免疫疾病的治疗。愈创木内酯化合物 **221**、**222** 具有免疫促进作用。Frondosin A(**223**)、B(**224**)、C(**225**)、D(**226**)、E(**227**)为得自海绵(*Dysidea fronosa*)的倍半萜类[32]，该类化合物有抗炎作用，并报道其中 frondosin A (**223**)和 D(**226**)具有抑制 HIV 的作用。



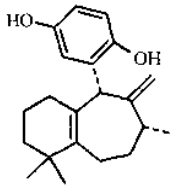
220



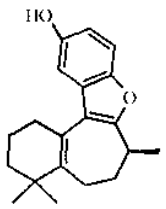
221



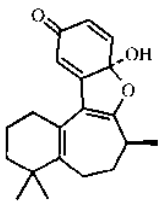
222



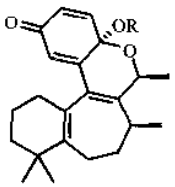
223



224



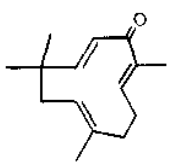
225



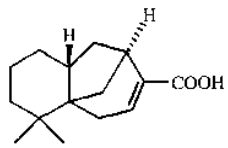
226 R=H
227 R=Me

从生姜属 *Zingiber aromaticum* 和 *Z. jerumbet* 中分离得到的 zerumbone (**228**)具有细胞毒和抗艾滋病毒 HIV 作用[33]，前者的 FC_{50}为 0.14μg/mL，后者 IC_{50}为 0.04μg/mL。integric acid (**229**)是得自 *Xylaria* sp. 能抑制 HIV 整合酶 HIV integrase IC_{50}为 3～10μm/mL[34]。

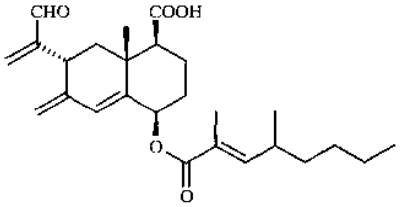
从 *Glyptopetalum sclerocarpum* 皮中得到 sclerocarpic acid (**230**)，该化合物具有抗菌和抗病毒作用[35]。**231** 和 **232** 是得自香没药 *Commiphora guidotti*，具有平滑肌松弛作用[36]。从 *Psacalium decompositum* 根中分离得到 3-hydroxycacalolide (**233**)和 epi-3-hydroxycacalolide (**234**)，二者具有降血糖作用。



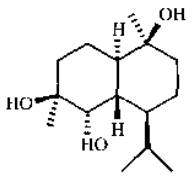
228



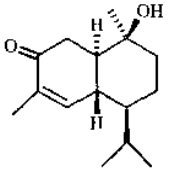
229



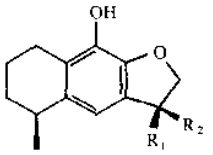
230



231



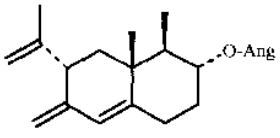
232



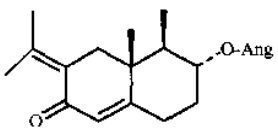
220

233 R_1=α-OH,R_2=β-Me
234 R_1=β-OH,R_2=α-Me

(+)-petasin (**235**)和(+)-isopetasin (**236**)是两种抗炎镇痛倍半萜，目前已能人工合成[37]。



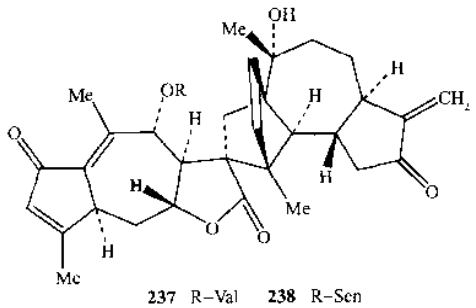
235



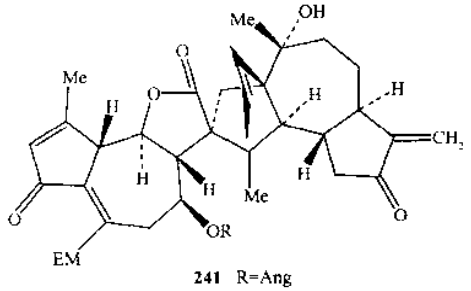
236

Arteminolides A～F (**237～242**)是得自 *Artemisia* 的双分子倍半萜内酯，为茴香烯-蛋白质转移酶 farnesyl-protein transferas 抑制剂和血管生成抑制剂，有专利报道可用于肿瘤的治疗[38]。pathanolide、costunolide 均有抑制分枝杆菌作用[39]。得自 *Premna oligotricha* 的**243** 具有抗菌作用。云木香(*Saussurea lappa*)中分

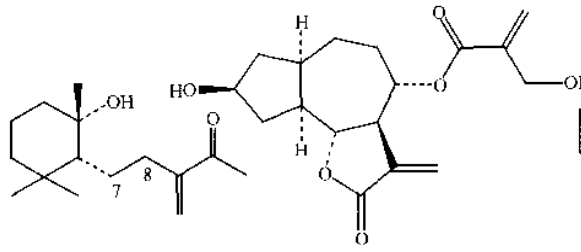
离得到的 cynaropicrin（**244**）、reynosin（**245**）和 santamarine（**246**），具有产生肿瘤坏死因子 Tumor Nactor-Factor-α（TNF-α）[40]的作用，而 TNF-α 是一种重要的哺乳动物内源性物质，其作用包括炎症和过敏疾病、诸如哮喘、局部炎症、内毒素休克、皮肤过敏和脏器移植的异体排斥等。



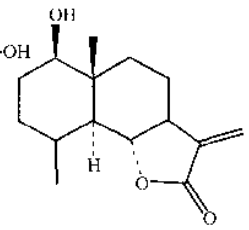
237 R–Val **238** R–Scn
239 R–Ang **240** R–Tig



241 R=Ang
242 R–Val

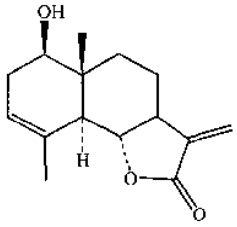


243



244

245



246

近代新药研究，化合物特别是天然产物，由于从天然中分离得到量往往很少，主要作为先导化合物，因此第一筛一般使用生化指标，即对一系列哺乳动物内源性酶或其他生理作用酶及其他与生命活动密切相关的物质，对倍半萜类的筛选也报道很多，特别是抗菌、抗霉菌、抗肿瘤或细胞毒、昆虫拒食等，也有一些很值得重视的结果，但作为基础研究或应用开发，毕竟比较初步，在此不详加叙述。

第三节 一般性质与提取分离

倍半萜类的分离工作，主要困难在于它们不像生物碱可以有一个提取总碱的方法，也不像黄酮、生物碱等具有专一的呈色反应或其他定性侦查手段。紫外光谱一般也无特征吸收。倍半萜类的定性检查主要靠薄层层析，采用浓硫酸加热或用硫酸香兰素显色，而且所呈的颜色，会因时间及硫酸中的含水量而有差别，但在层析过程中比移值或溶剂部位与化合物的极性和化学性质有密切的关系，对推定其归属烃、醛、酮、醚、酯、醇、酸等具有一定参考价值。

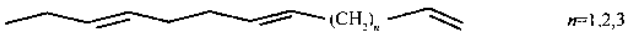
倍半萜往往是芳香油中高沸点部分的主要成分，对芳香油的香味关系很大，一般用水蒸气蒸馏所得的芳香油，经分馏蒸出低沸点的单萜部分，高沸点下脚可用层析分离，往往可得到多种倍半萜化合物。关于倍半萜类结构与香味的关系前人已有综述。

系统分离方法（Bohlmann 实验室）[41]：植物原料经切细后用乙醚抽提，乙醚浸膏溶于甲醇，于 −20℃冷冻以部分除去油、酯、蜡及三萜、甾体类杂质，经初步硅胶柱预分，以石油醚、石油醚-乙醚（9:1，3:1，1:1）；乙醚、乙醚-甲醇（9:1，混合溶剂）依次洗脱。石油醚洗脱部分主要为烃类包括倍半萜烷烃、烯烃，9:1 洗脱部分主要为醚（氧环化合物）、醛、酮，3:1 部分为醛、酮、酯（内酯）类，1:1 部分为内酯、羟基化合物，乙醚部分为羟基和多羟基化合物，乙醚 甲醇 9:1 为多羟基化合物及羧酸类。这些大体的经验规律主要是取决于化合物的极性性质，对多官能团的化合物取决于极性大者。天然甾体、三萜类化合，由于其分子比较大，其酯往往出现于石油醚-乙醚 9:1 部分，单羟基化合物则出现于 3:1 部分。各部位再进一步层析或采用制备性薄层层析分离，一般可根据本方法全面检查各部位或按兴趣分离其中个别部位。一般 200g 生药能分离检查含量在 0.001%以上的成分，并鉴定结构 20 多个成分。

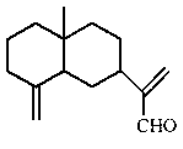
倍半萜内酯的分离，一般用乙醇抽提，乙醇浸膏经溶剂分配预处理，即利用倍半萜内酯极性中等，不溶于石油醚也不溶于水的特点进行溶剂分配，常用氯仿-水分配以除去水溶部分，浸膏再用石油醚-10%含水甲醇分配，甲醇部分供分离用，也有用浸膏或原生药用石油醚脱脂以除去非极性部分或用丁醇-水分配除去极性物质。经上述分配后再做层析分离，一般硅胶或氧化铝层析分离倍半萜类效果很好，个别结构极为相似，化学性质相近的再用高效液相 HPLC 分离。目前，制备型薄层层析仍是倍半萜分离的常用手段，主要因为方法简便，分离制备 10～100mg 并不困难，分离得到量足以进行化学结构的确定及体外生物活性的筛选。高效液相层析，分离效果好，制备型高效液相层析，分离条件掌握得好，可用来分离几十个上百个化学成分，能完成制备型薄层达不到的分离要求，但溶剂消耗量大，费用较大，近年液相层析与仪器分析的结合发展极快。液质联用 LC-MS 和液相核磁联用 LC-NMR 已进入实用阶段，可以利用 LC-MS 和 LC-NMR 直接从分析结果中，推定样品中各种化学组分，并推定其结构。

［**实例 1**］　云木香（*Saussurea lappa*）的倍半萜成分

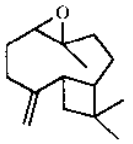
云木香 250g（粗粉）以乙醚抽提，乙醚浸膏经初步硅胶层析划分，各部位以制备型薄层层析分离，粗分用自制的制备型薄层层析板，最后纯化则用 E. Merck 薄层层析板。各成分经 UV、IR、MS、^{1}H-NMR 鉴定。



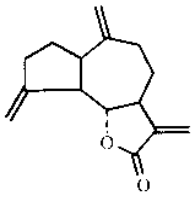
247



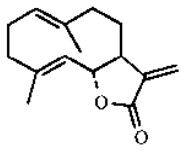
248



249



250



212

A. 石油醚部分分离得到化合物**247**　180mg。

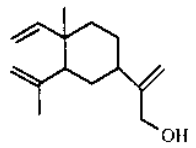
B. 石油醚-乙醚 9∶1 部分，分离得到**248**　60mg、**249** **24**mg 及甾体、三萜酯类。

C. 石油醚-乙醚 3∶1 部分，分离得到**250**　175mg、**212** **100**mg 及甾体、三萜酯类。

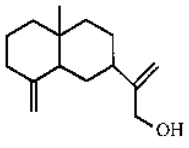
D. 石油醚-乙醚 1∶1 部分，分离得到**251**　40mg、**252**，**253** 混合物约 **5**mg。

E. 乙醚部分，分离得到**254**，**255** 混合物 **5**mg、**256** 14mg、**257**　15mg、**258**　8mg、**259**　6mg。

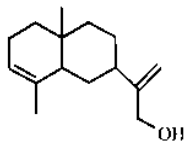
F. 乙醚-甲醇 9∶1 部分，分离得到**260** **20**mg、**261**，**262** 混合物 8mg。



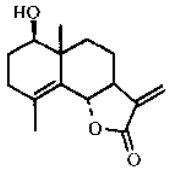
251



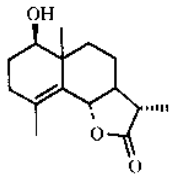
252



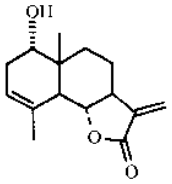
253



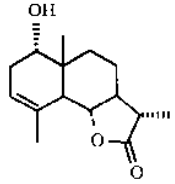
254



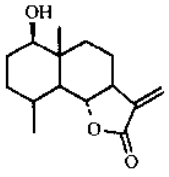
255



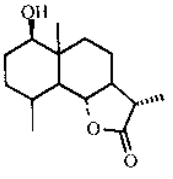
256



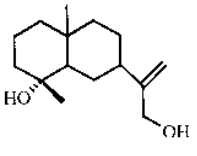
257



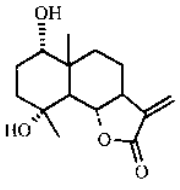
258



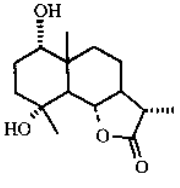
259



260



261



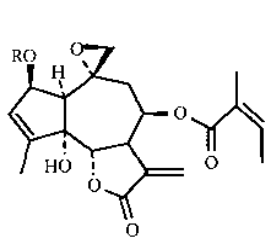
262

[**实例 2**] 圆叶泽兰(*Eupatorium rotundifolium*)的抗肿瘤成分[42]

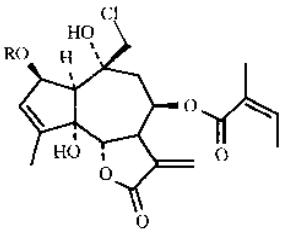
本工作是以 KB 细胞体外培养指示追踪分离抗白血病的细胞毒有效成分。圆叶泽兰 17kg,乙醇抽提,得抽出物 500g(A)。抽出物以氯仿 4 L,水 2 L 分配,氯仿部分 283g(C),水部分 150g(B)。氯仿部分以石油醚 3 L,含水 10%的甲醇分配,石油醚部分 88g(D)甲醇部分 170g(E)。分别以 KB 细胞培养法做活性试验。ED_{50}(μg/mL):(A)2.6、(B)100、(C)2.1、(D)30、(E)1.9。

取活性最强的 E 部位 70g 以硅胶 3kg 层析,用不同比例的氯仿与甲醇洗脱,分别以 KB 细胞培养检查生物活性,从中分离得到八种倍半萜内酯。得量与细胞毒活性如下:

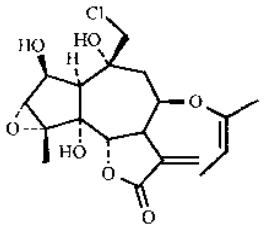
	得量/g	ED_{50}/(μg/mL)
泽兰苦内酯(euparotin,**263**)	1.2	2.9
乙酰泽兰苦内酯(euparotin acetate,**264**)	6	0.29
泽兰氯内酯(eupachlorin,**265**)	0.95	2.6
乙酰泽兰氯内酯(eupachlorin acetate,**266**)	7	
泽兰氧化苦内酯(eupatoroxin,**267**)	1.5	
圆叶泽兰苦内酯(eupatundin,**268**)	3.9	0.80
泽兰氧化氯内酯(eupachloroxin,**269**)	0.25	2.4
10-表-泽兰氧化苦内酯(10-epi-eupatoroxin,**270**)	0.6	



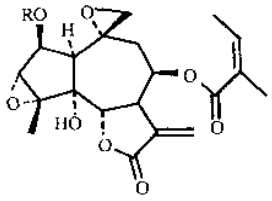
263 R=H
264 R=Ac



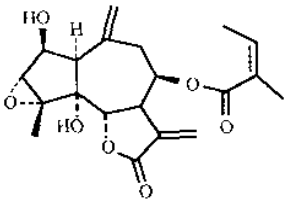
265 R=H
266 R=Ac



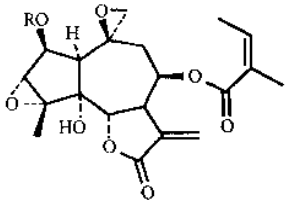
269



267



268



270

此工作是最早报道从植物中分离得到含氯倍半萜类,但值得注意的是,倍半萜类的环氧 epoxy 衍生物于硅胶层析过程中,若用氯仿做洗脱剂时,常发生氧环开裂而成氯取代物。酯侧链上的环氧也可能开裂,而泽兰中泽兰苦内酯与其相应的含氯内酯共同存在。这种环开裂的现象,可能是氯仿中含有或分解产生微量盐酸的缘故。

[**实例 3**] 肿柄菊(*Tithonia lagiliflora*)的抗白血病成分[43]

11kg 生药粉末以乙醇抽提,乙醇浸膏以苯抽提,苯减压浓缩成浸膏以己烷脱酯,不溶部分以正丁醇-水分配,正丁醇部分浓缩成浸膏,溶于乙醇,活性炭脱色得 165g,取 68g 以 10kg 硅胶层析。

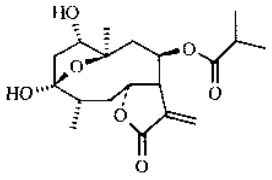
流分	溶液	成分
1~2	苯	St
3~5	苯-乙酸乙酯 4:1	St, G
6	3:1	G, F, (E)
7	3:1	(G), F, E, (D)
8	2:1	(E), D, (C)
9	2:1	(D), C, (B), St

续表

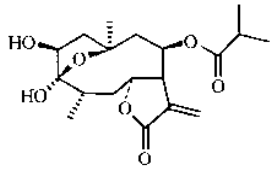
流分	溶液	成分
10	1:1	(C), B, (A)
11	1:1	(B), A
12	1:2	A, St
13	1:2	A, (α), St
14～15	1:3	A, (α), St
16～17	乙酸乙酯	α, St
18～19	乙酸乙酯-乙醇 9:1	St

St 为甾体

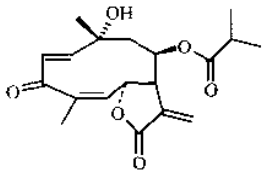
流分 7	Al_2O_3	再层析 B:EtOAc	9:1	**276**	0.75g
			7:3	**275**	0.5g
流分 9	Al_2O_3	再层析 B:EtOAc	7:3	**274**	0.45g
			2:3 混合物		0.8g
以 $AgNO_3$ 硅胶(12%)		再层析得		**273**	0.3g
流分 10	Al_2O_3	再层析 B:EtOAc	1:1	**272**	0.55g
流分 14～15	硅胶	再层析 B:EtOAc	1:3	**271**	4.7 g



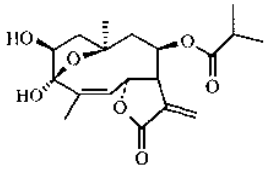
271



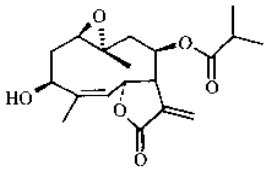
272



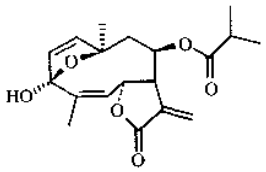
273



274



275



276

由于自然界倍半萜大多是多种同系物共同存在，分离相当困难，在 TLC 检查时斑点常有重叠，这种混合物常常能被高兆赫核磁谱检查出来，对这种情况可考虑下列方法进一步分离：① $AgNO_3$，硅胶柱或薄层分离，这对一些不饱和化合物非常有效；② 制备衍生物，如羟基可制成乙酰衍生物，醛酮制成羰基衍生物，α-亚甲基-γ-内酯可制备 CH_2N_2 衍生物，此衍生物很容易与其二氢化合物分离。对结构相近的倍半萜类，近年已广泛使用 HPLC 分离。

液相层析是天然产物化学中分离分析的主要手段之一，早期的液相层析主要利用不同溶剂包括不同比例的混合溶剂洗脱，按体积收集流分，各流分进行再层析或制备型薄层进一步分离或配合仪器分析检测。随着液相层析的发展，特别是吸附剂的种类和化学、物理性能的迅猛发展，液相直接与分析仪器联用，做进一步定性定量分析及以仪器分析指示进行分离纯化。常用的联用检测器有紫外、红外、荧光、电化学、折光散射、蒸发散射等，这些检测器各有特色，各有各的灵敏度和分辨率，但其中没有一种可作为通用的检测器用于检测植物中所含的各类次级代谢产物成分，质谱和核磁共振是两种最体现结构特点的分析方法，很早就有人设想以 MS 和 NMR 谱作为液相层析的检测手段，但由于技术原因一时较难实现，近年 LC-MS 和 LC-NMR 联用技术已渐趋成熟。

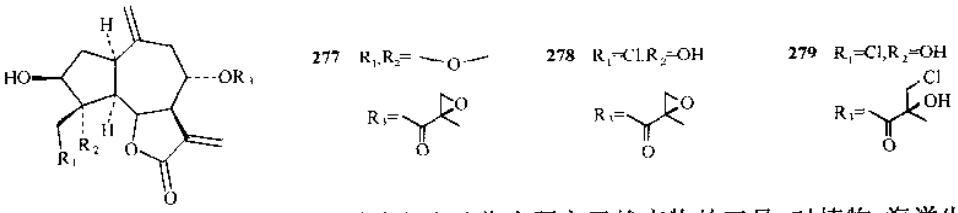
一般天然有机化合物分子在质谱条件下，能离子化而形成分子离子峰，在离子化电压条件下又能碎片化。各种化学物质有其各自的碎片化规律，这些都能利用质谱得到检测。三十多年前，前人已成功运用 GC-MS 以分析挥发性物质，但 LC-MS 联用远比 GC-MS 复杂。远比分析溶质量多数百倍以上的洗脱溶剂进入质谱的真空系统，溶剂蒸气的除去及天然产物类型和化学性质的复杂性给 MS 造成了较大的困难。经二十

多年的悉心研究取得成功，日前采用的技术有电喷雾液质联用 ES LC-MS(electrospray LC-MS)、热喷雾液质联用 TSP LC-MS(thermospray LC-MS)和 Frit-FAB LC-MS。目前 TSP LC-MS 已成功地用于相对分子质量为 200～1000 的天然产物，诸如黄酮、香豆素、吡酮、儿茶素、酚性化合物、木酯体、环烯醚萜、倍半萜、二萜、三萜、甾体、类脂体、单糖、低聚糖、皂苷等方面，基本覆盖了高分子以外的大部分植物成分[44]。

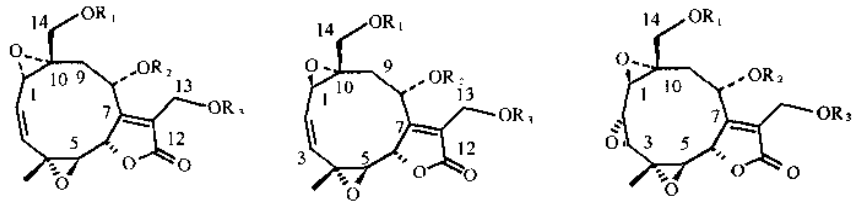
倍半萜内酯类化合物一般不容易气化，高温气化则容易发生热分解，因此该类化合物较难用 GC-MS 检测，而该类化合物一般紫外又无特征吸收，而 220nm 以下低波长又缺乏专特性，而采用视差折光和蒸发散射通用的检测手段则灵敏度较低，且不能显示检测物质的结构信息，而 TSP-LC-MS 用于倍半萜内酯则是较好的选择。

青蒿素(**214**)是倍半萜一族中具有重要生理作用的一类，它的含量测定作为质量控制指标一直是个问题，特别是从植物中测定青蒿素含量，由于青蒿素对紫外的吸收主要在 220nm 左右的内酯吸收，其消光系数为 1×10^3，因此少量酚性杂质未除尽往往能对检测产生极大的干扰。另外，青蒿素对热又不稳定，而 TSP LC-MS 则较为适用[45]。黄花蒿以二氯甲烷提取，以提取物做分析，柱采用 RP-18 Nucleosil 以 $CH_3CN:H_2O$ (0.05TFA)从(50:50)～(75:25)梯度洗脱，正离子形式采用乙酸胺，TSP 质谱出现准离子峰为 m/z 283 $[M+H]$。300$[M+NH_4]$和 341 $[M+CH_3CN+NH_4]$。

另外，以氯仿提取菊科植物 *Centaurea solstitialis*，检测其中的倍半萜内酯[46]，HPLC 柱用 RP-18 Novapak，以 $CH_3CN:H_2O$(15:85)～(45:55)梯度层析，检出其中相对分子质量各为 380、418 和 452 三个化合物，鉴定为**277**、**278** 和 **279**。



近年已开始使用 LC-MS 和 LC-NMR 结合的方法作为研究天然产物的工具，对植物、海洋生物、微生物次级代谢产物进行的研究，无疑又是一大突破。大体方法如 Kraus 等对 *Vernonia fastigiata* 中倍半萜的研究工作[47]，即将 *V. fastigiata* 全植物以乙酸乙酯提取，提取物用旋转腔逆流层析(rotatory locular countercurrent chromatography)。溶剂系统石油醚-乙酸乙酯-甲醇-水 9:1:5:5 收集对枯草杆菌(*Bacillus subtilis*)有显著抑制活性的流分。该部位先以 $MeOH/H_2O$ 梯度洗脱，LC-UV 检测，质谱检出的准分子离子峰分别为 379、381、437、421、423、435、463、421、468 等九个化合物。另外，该部位做 LC-MS，吸附柱为 RP-18，以乙腈/水检 30min 内乙腈浓度从 15%增至 40%，再经 30min 从 40%增至 100%，流速为 0.7mL/min，各峰检测其分子离子峰及相应的碎片峰，也能得 9 个 vernosistifolide 倍半萜内酯化合物。它们的酯侧链分别为 Methac、iBu、Ang 和 Ac。LC-NMR 仍采用上述 LC-MS 的同样条件，将上述 9 种化合物直接测出 NMR 图谱及数据，按 LC-NMR 谱数据解析推定 9 种化合物的结构为 **280**～**288**。



280 H Methac H
281 H *i*-Bu H
282 H Methac Ac
283 H *i*-Bu Ac
284 H Ang Ac
285 Ac Methac Ac

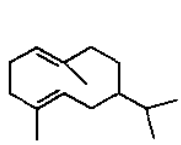
286 H Methac Ac
287 H *i*-Bu Ac

288 H Methac Ac

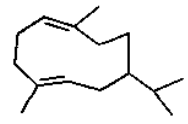
LC-MS 和 LC-NMR 方法结合使用提供了一种快速分离分析植物、海洋生物和细菌发酵产物化学成分，推定已知及新化合物结构的方法，其重要意义在于打破了过去必须分离得到纯化合物才能进行结构研究推导的传统方法[48]。虽然这种方法的使用目前还处于初期，特别是由于 NMR 谱对推定天然产物结构的极大重要性，而 NMR 方法的灵敏度远比 MS 低，因此目前这种微量和超微量的方法特别对含量较低的成分的分析鉴定还存在一定难度，但随着时间的推移和 NMR 技术的快速发展，可以预见它将很快成为普遍使用的常规方法。

第四节　倍半萜的立体化学——十元环的构象分析

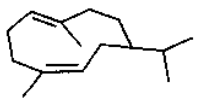
倍半萜的立体化学与一般立体化学概念一致，其中主要注意的是十元环的构象问题。十元环的愈创木烷内酯类(**135**)或愈创木烷类，由于分子中具有两个双键，双键的顺式或反式异构可形成四种几何异构体：germacrolide(*trans-trans*，**289**)、melampolide(*cis-trans*，**290**)、heliangolide(*trans-cis*，**291**)和 *cis*，*cis*-germacranolid(*cis-cis*，**292**)。



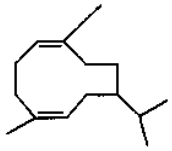
289



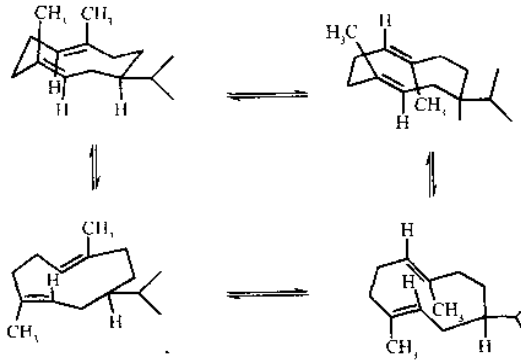
290



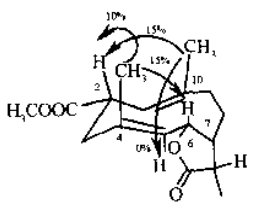
291



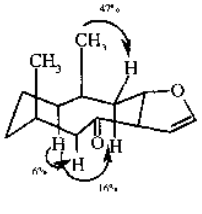
292



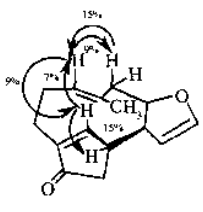
这四种异构体的生物合成究其来源属于不同立体异构的茴香烯原磷酸酯，是否先形成愈创木烷类，再在生物合成后期异构化的问题尚不十分清楚。在植物中往往同时存在超过一种类型的化合物，上述每一类型，由于两个双键的立体姿态，又可形成四种构象，以 germacrolide 为例，可有下列四种构象形成的平衡混合物，在倍半萜内酯中 7,8-内酯易相互变化而形成平衡混合物，6,7-内酯在溶液中则能形成固定构象，呋喃形十元环化合物也能形成单一的构象。十元环的构象问题，主要可由 ^{1}H-NMR 的 NOE 观察，以 dihydrotamanlipin A (**293**)为例，照射 H-14 质子至饱和，能使 H-2 增益 15%，而对 H-6 不增益。照射 H-15 使 H-2 增益 10%，H-6 增益 15%，如图 6-1 所示，因而推定其构象为上述**293**。对 furanocaienone(**294**)和山胡椒内酯(linderalactone，**295**)的 NOE 如图 6-2 所示。同样，对土木香内酯(**212**)及其 11,13-二氢化合物作 NOE 观察，也仅有一种构象。isobelin (**296**)于溶液状态测定是两种构象，**296a** 和 **296b** 其比例为 7:1。将 isobelin 溶于 -50℃溶



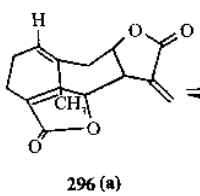
293



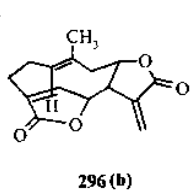
294



295



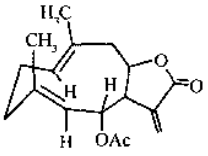
296 (a)

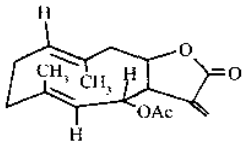


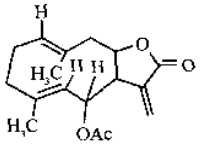
296 (b)

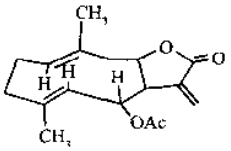
图 6-1　　图 6-2

剂中测定其 NMR，其构象主要为后者。因此认为，结晶状态时主要构象为后者一种，温度升高即发生构象转变。laurenobiolide（**297**）也一样，温度升高至 -15℃，测定 NMR，证明成四种构象**297a**、**297b**、**297c**、**297d**，其比例为 5:4:3:1。

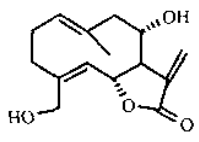

297a

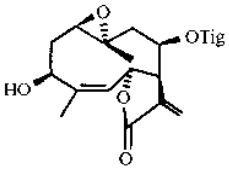

297b

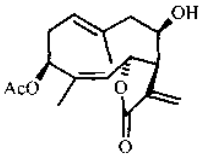

297c

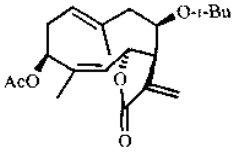

297d

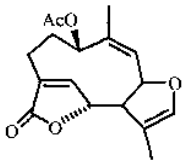
urospermal（**298**）由于形成分子内氢键，因此能分离得到两种构象异构体 A 和 B。heliangin（**299**）、eupaformonin（**300**）、peucephyllin（**301**），几种 heliangolide 均为 6,7-内酯，经 X 射线衍射证明其结晶均属单一构象。此外，zeylanin（**302**）、zeylanene（**303**）与 linderalactone 相似，均能形成单一构象。

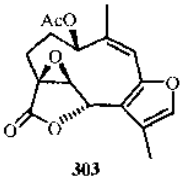

298


299


300


301


302

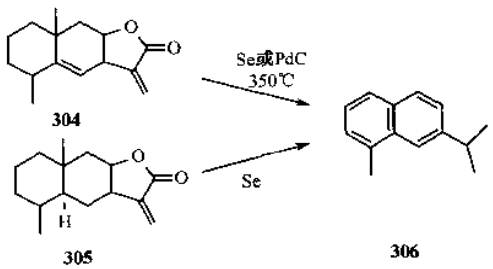

303

第五节　倍半萜的化学反应

倍半萜类由于立体环境比较复杂，羰基和羟基等官能团位置不同而化学环境各异，化学反应情况也会有较大变化，甚至常出现难以预料的结果，下面列举倍半萜类的一些主要反应。

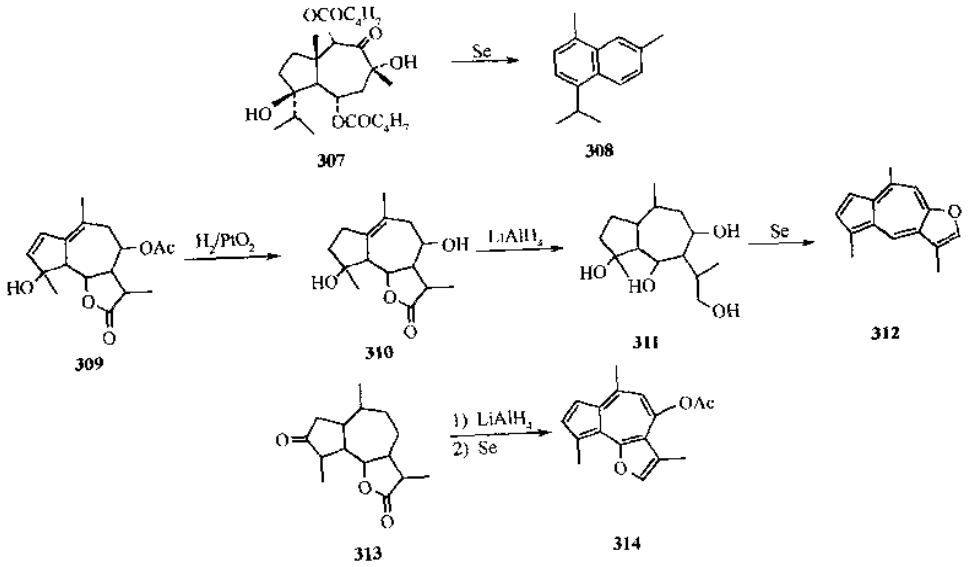
一、硒　脱　氢

脱氢反应是早期推定有机天然产物基本骨架的常用方法。最早曾采用接触脱氢、锌粉蒸馏、硫磺脱氢，而后来则主要用硒脱氢，脱氢产物用气相层析或 GC-MS 分离鉴定，如 alantolactone（**304**）和 isoalantolactone（**305**）均可得到萘衍生物 eudalene（**306**）。



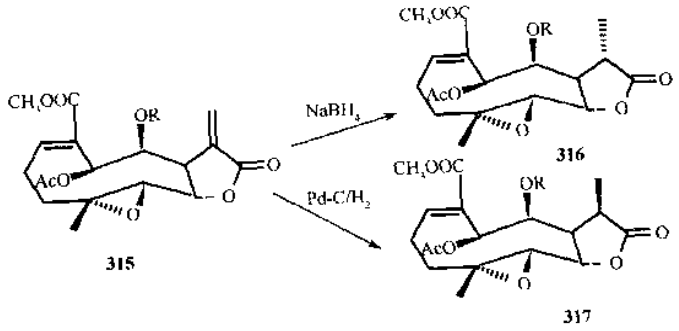
304　**305**　**306**

一般倍半萜类脱氢时，六-六环倍半萜产生萘衍生物。五-七环产生 azulene 类衍生物，但五-七环脱氢时也会得到萘类衍生物为主要产物，并同时得到蒽类衍生物。如 laserpiline（**307**）硒脱氢产物为 **308**。

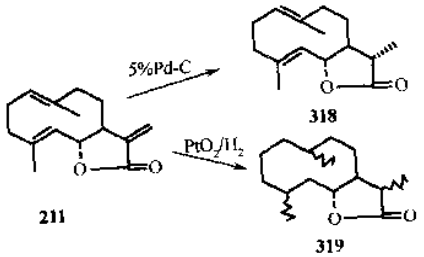


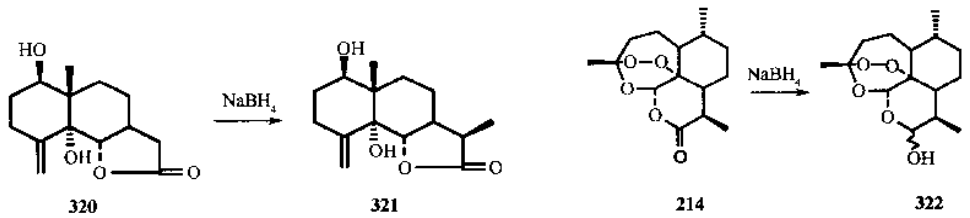
二、氢 化

一般倍半萜接触氢化大体与其他类型化合物相似，以 maculatin (**315**)为例，若以 Pd-C 接触氢化，则内酯环的 α-亚甲基氢化，而主要产物甲基构型为 β (**317**)。若以 PtO_2 接触氢化，则两个双键全部加氢，所得产物 C-11 甲基为 α 和 β 两种构型的混合物。若以 $NaBH_4$ 还原，则 C-11 甲基均为 α-构型(**316**)。



土木香内酯(**211**)若以 Pd-C 接触氢化，则选择性的于 C-11═C-13 双键氢化，所生成的 C-11 甲基为α-构型(**318**)，若以 PtO_2 高压氢化则得六氢合衍生物，而产物也无立体选择性(**319**)，如 tanacitin(**320**)以钠硼氢还原得 artemin(**321**)。青蒿素(**214**)若以 $NaBH_4$ 还原则 C-12 羰基选择性还原，而不影响过氧键，生成产物为 α，β-异构体的混合物**322**。

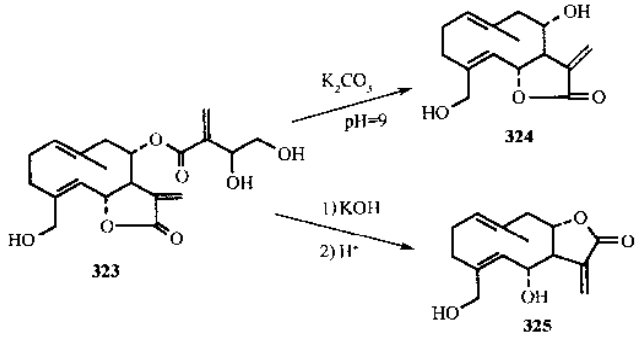




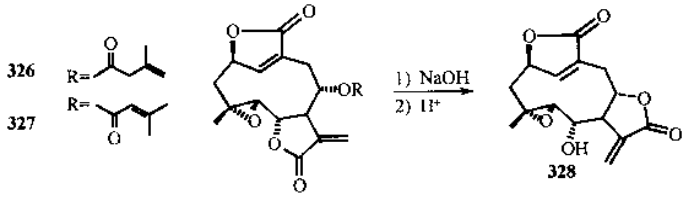
320 321 214 322

三、水解与内酯再环合

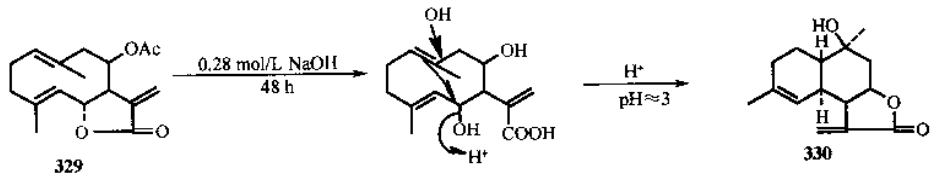
倍半萜内酯碱水解时，需注意内酯环附近另有羟基或酯基团时，常易与另一羟基再环合，若长时间碱处理则可能导致环重排。一般6,7-内酯若C-8位有羟基或酯基团，酯环打开后再环合时容易形成7,8-内酯，如chicine（**323**）用K_2CO_3处理只水解酯侧链成salonitenolide（**324**），而用KOH水解则酯侧链和内酯都水解，并经再环合而形成artemisiifolin（**325**）、elephantopin（**326**）和elephantin（**327**），也同样生成物为elephantol（**328**）。若在强碱中处理时间过长，则环重排，如epi-tulipinolide（**329**）经重排生成杜松烷cadinane型内酯（**330**）。



323 324 325



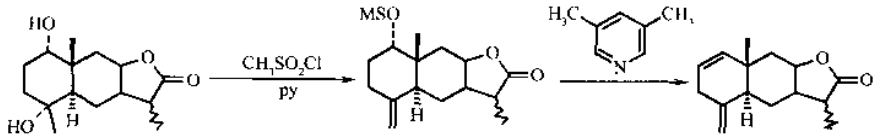
328



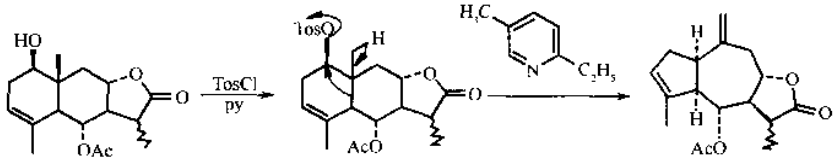
329 154 330

四、重排转化

倍半萜在很多反应条件下会产生环的重排，如dihydromicrocephalin（**331**）与dihydrocyclopyrethrosin（**334**）。结构比较类似，但经磺酰化后再经有机碱处理，前者为脱去两分子水的产物**333**，后者则产生环的重排，而成五～七环的愈创木内酯型的**336**。

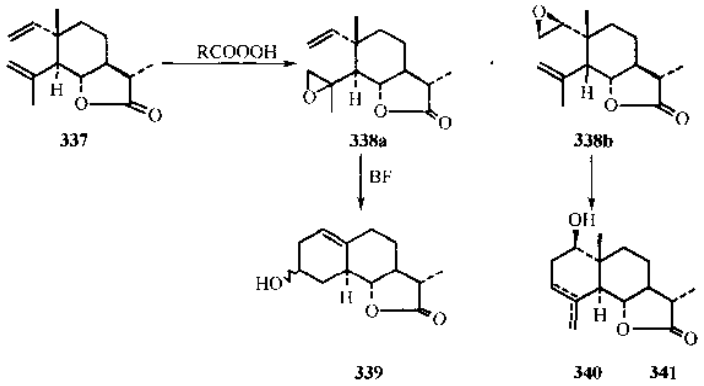


331 332 333



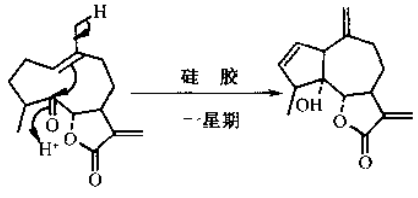
334 335 336

elemanolide 类的倍半萜**337** 以酸过氧化，得两种环氧化合物 **338a**、**338b**，此环氧化合物以 BF_3 接触环化，可生成桉叶内酯型化合物：前者得**339**，后者得二氢 santamarin（**340**，C-3、C-4 双键）和二氢 reynosin（**341**，C-4、C15 双键）。



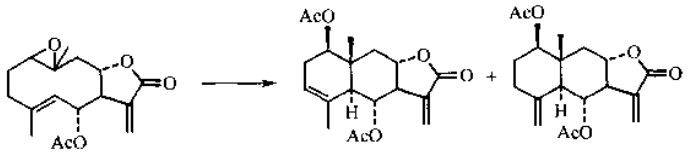
337 338a 338b 339 340 341

对十一元环类型化合物**342** 以硅胶处理，经一星期可转化成愈创木内酯类化合物 **343**，因此对此类雏牛儿内酯类（在大环上有两个双键）经长时间硅胶层析要考虑其变化的可能性。

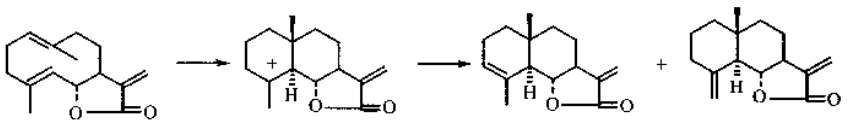


342 343

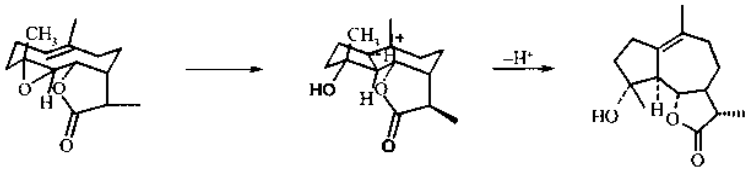
土木香内酯（**212**）以 $HClO_4$/AcOH 处理，能生成两种桉叶内酯类化合物 α-环化土木香内酯（**344**）和 β-环化土木香内酯（**345**），而雏牛儿内酯类的双键氧化成环氧化合物则环化更具有立体专一性。例如，pyrethrosin（**346**）的 1，11 环氧化合物酸催化则可环合成两种桉叶内酯类化合物 **347** 和 **348**，而 dihydroparthanolide 的 4，5-环氧化合物**349** 以 BF_3 催化环化，则生成愈创木内酯类化合物**351**。



346 347 348



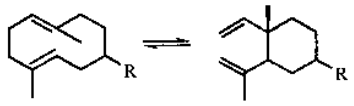
211 344 345



349 350 351

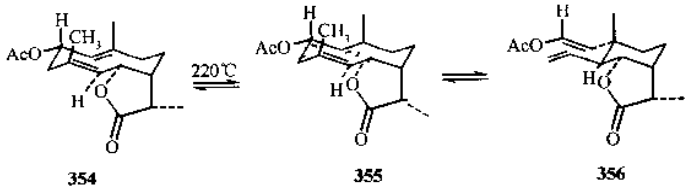
五、Cope 重排

反式-反式-环-1,5-二烯倍半萜类经热重排,称 Cope 重排,重排产物立体关系模式如 **352** 转化为 **353**。

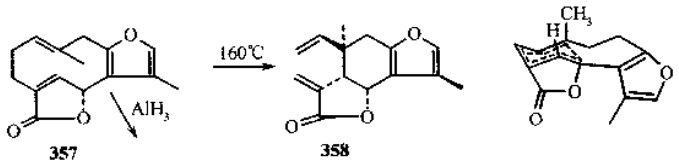


352 353

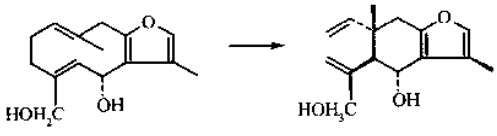
Cope 重排是平衡反应,最终产物为原料和生成物有固定比例的混合物。dihydrotamaulipin A 的乙酰化物**354** 经反应重排收得其相应的产物 **356**,原料与产物为 2:3 的混合物。山胡椒内酯(**357**)于 160℃ 加热生成异山胡椒内酯(**350**),原料与反应产物也为 2:3,如将异山胡椒内酯于同样条件下加热则得到同样的平衡产物;如将山胡椒内酯(**357**)经还原制备其衍生物 **359** 或 **359** 的醚型衍生物,同样经 Cope 重排,则收得相应的 elemane 型化合物**360**。此反应的高度立体化学专一性是由于形成椅式的过渡态,如 **361**、**362** 而重排转化。



354 355 356



357 358



359 360



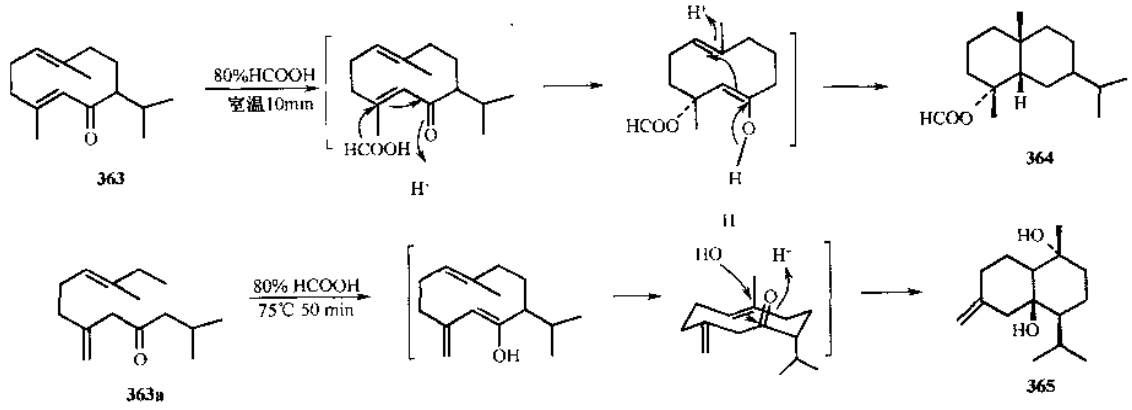
361 362

Cope 重排常被用于倍半萜类的全合成或半合成转化，如曾被作为从 elemane 以全合成土木香内酯的方法。

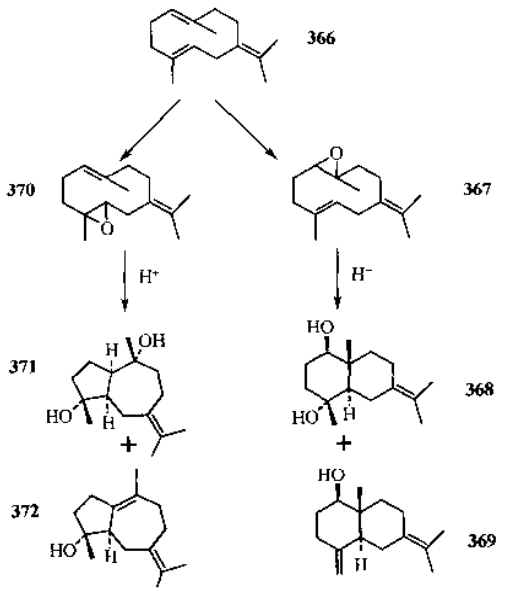
Oxy-Cope 重排也是在天然产物合成常用的反应。此种 divinylcycloalkan-1-ol 经 Oxy-Cope 重排收得 cyclodec-5-enone，得率可达 90%，其双键的 $E:Z=3:2$。

六、愈牛儿二烯系统的跨环重排

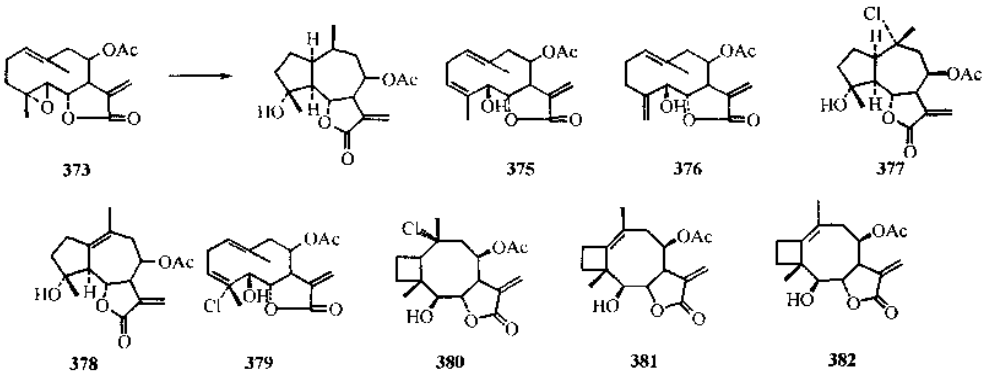
愈牛儿二烯(germacradiene，**363**)于酸性水溶液中加热会导致环重排。其 C-4、C-5 双键经重排形成桉叶烷型化合物**364**，而 C-5、C-15 双键重排则形成杜松烷型化合物**365**。



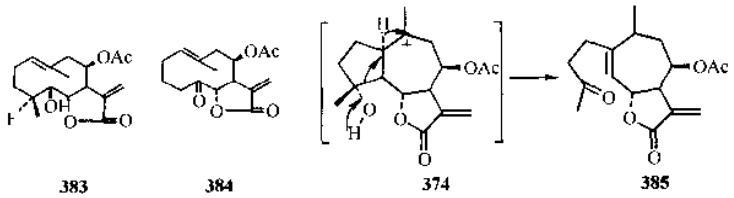
愈牛儿二烯的跨环重排，如 germacrene B (**366**)可由其过酸氧化后所成环氧位置不同而不同，C-1、C-10 环氧则形成桉叶烷型倍半萜**368**、**369**，C-4、C-5 环氧则重排形成愈创木烷型**371**、**372**。



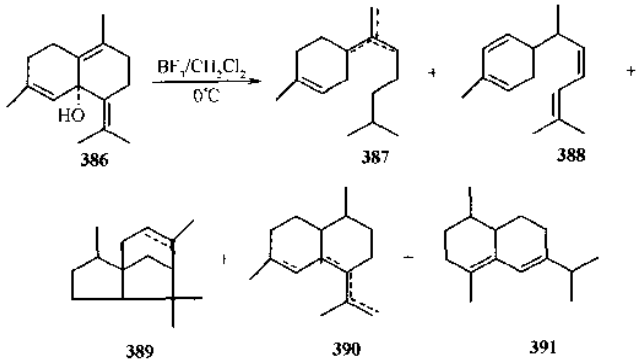
愈牛儿内酯及其衍生物的环化重排对阐明结构常有较重要的意义。lipiferolide (**373**)具有 C-4、C-5 环氧，经一般酸环化则生成愈创木内酯类衍生物**374**，但 lipiferolide (**373**)若以 SO_2Cl_2 环化则收得一系列产物，其中除**374** 以外，尚有 **375～382**。



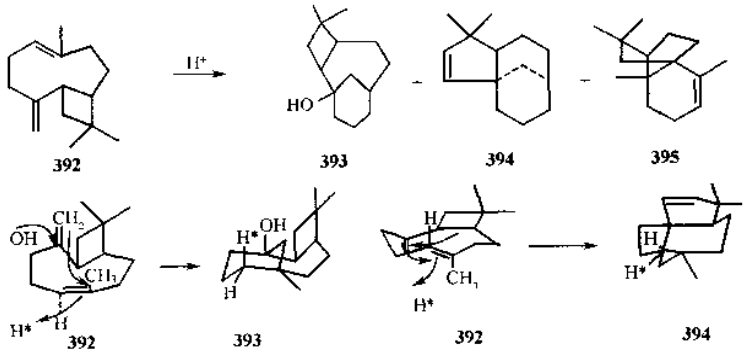
若以 HCl 环合，则生成 **374**～**379**；若以 BF_3/Et_2O 环合，则得到**383**～**385**。

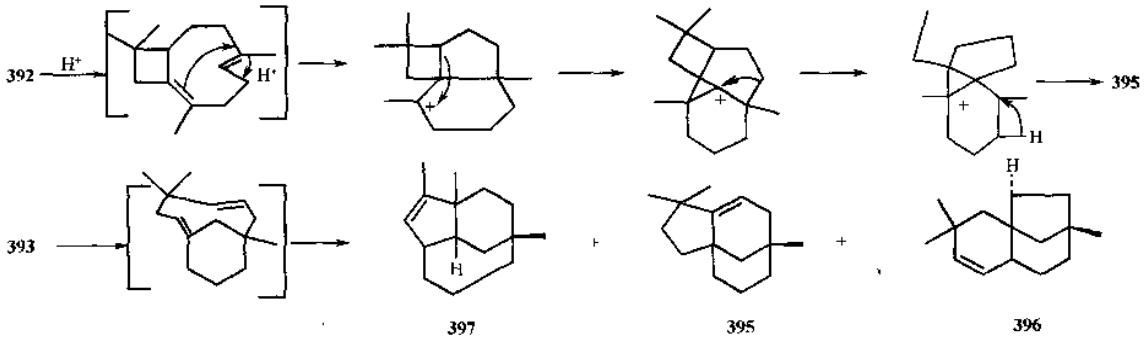


倍半萜化学反应的复杂性常在于双键位置间产生一系列复杂的环合。可从下列两例说明。茴香烯醇（**386**）以 BF_3 催化能产生一系列环化产物，它们为 α，β，γ-没药烯，α，β，γ-bis-abolenes（**387**），α-姜黄烯（α-curcumene，**388**）、α-cedrene（**389**）及 cedalene（**390**）和 δ-selinene（**391**）。因而茴香烯醇被认为是倍半萜类的生源前体。

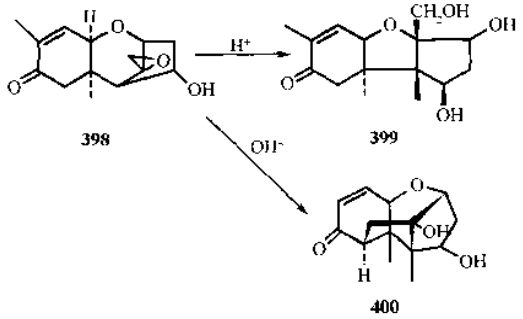


石竹素（caryophyllin，**392**），结构中具有九元环的大环，其两个活性双键也造成环合反应的复杂性，其环合的机制并经以 D_2SO_4 示踪证实，为经环合重排生成 caryolnanol（**393**）、clovene（**394**）和 neoclovene（**395**），而重排产物 **393** 又可以进一步重排成 **394**～**396**。这些化合物的形成，主要解释为通过其二烯型的中间体 **397** 完成的。





对含有较多氧原子的化合物也会产生复杂的重排反应，如 tricholecolone（**398**）在酸、碱中的重排产物各异。上述一些倍半萜类的化学反应，特别是一系列重排反应，对设计倍半萜类的全合成或半合成非常重要，而且这些反应主要反映了倍半萜类化学反应性能的特殊性，对了解倍半萜的化学性质也有其重要价值。



第六节　倍半萜的光谱解析

一、紫外和红外光谱

倍半萜类基本母核本身没有共同的发色团，因此紫外光谱无特征吸收，结构中如有内酯环，一般在210～200nm 有吸收峰，但特征性不强，如结构中有共轭系统，则其紫外吸收与一般紫外光谱的规律一致。

红外光谱对倍半萜类主要是羰基的性质确定极为重要，而指纹区的解析则比较困难，也缺乏专一性。但从红外光谱解析羰基存在形式比较专特，比较实用。一般的羰基吸收如表 6-1 所示。

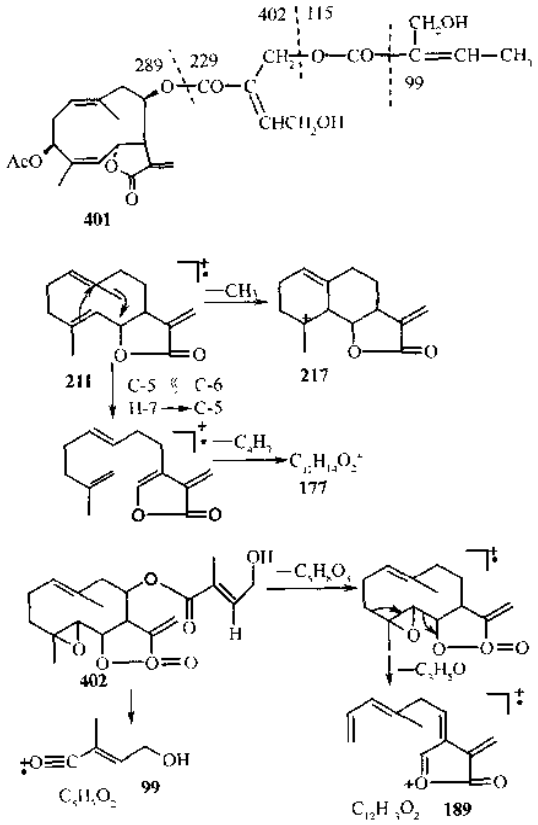
表 6-1　IR 谱中一般的羰基吸收位置

一般酯类的吸收	1735～1750cm^{-1}	酸	1700～1725 cm^{-1}
δ-内酯	1735～1750 cm^{-1}	环戊烷酮	1735～1750 cm^{-1}
γ-内酯	1760～1780 cm^{-1}	环己烷酮	1700～1725 cm^{-1}
α，β-不饱和γ-内酯	1740～1760 cm^{-1}	环己烯酮	1665～1690 cm^{-1}
β-内酯	～1840 cm^{-1}	环戊烯酮	1690～1710 cm^{-1}
醛	1720～1740 cm^{-1}	α，β-不饱和醛	1685～1710 cm^{-1}

二、倍半萜类的质谱

倍半萜类的质谱碎片化规律，由于基本骨架或取代基位置的不同而有很大变化，因而对基本骨架来说，首先能解决分子离子峰，但对分子中含有 OH 或 OCOR，则分子离子峰在电子轰击质谱中常不出现或者很

弱，而主要出现脱水或 Mclafferty 重排而失去酸部分[M-RCOOH]$^+$峰，而分子离子峰则需用 CI、FAB 或 FD 质谱测定，并可再从 EI 质谱推定酯侧链，如 provincialin (**401**)，其酯侧链碎片化规律见反应式。十六环的土木香内酯(**212**)与 eupassopilin(**402**)，后者是 C-4 与 C-5 有环氧，它们的各自裂解规律见反应式，碎片化过程完全不同。



三、倍半萜类的^{1}H-NMR

由于倍半萜结构中质子数较多，很多质子的共振信号重叠于 1.0～2.5ppm 之间，因此用低兆赫(100MHz 以下)^{1}H-NMR 一般仅能解析一些烯质子及部分连接于含氧官能团的质子。应用高兆赫^{1}H-NMR 谱解析一般萜类化合物，则是研究结构的一种非常有效的工具，由于高兆赫核磁各组质子的信号分离得比较好，裂分常数可以正确量出，利用双照射技术摸清各组质子的邻接关系，平面结构常能得以解决，再利用裂分常数 NOE 等以初步确定其立体结构。近年除应用常规^{1}H NMR、^{13}C-NMR 技术外，已广泛使用二维谱技术，对确定天然产物结构更加快捷，更加有效。

1. 倍半萜^{1}H-NMR 谱解析程序

由于倍半萜化合物一般碳原子均为 15 个，但实际上经常会超过 15 个，超过部分首先考虑具有酯侧链(结合质谱观察)解析出是何种酸构成的酯。其次检查甲基及环外亚甲基信号，由于倍半萜是由三个单元的异戊烯首尾连接形成，即是由其生源前体麝香子醇按各种不同方式环合，因此环合时必然留下一些甲基或环外亚甲基，如未经进一步裂环则一般为三个，而且它们的相对位置大致是固定的，这些质子信号比较容易辨认。这些甲基及环外亚甲基的解析往往对推定基本母核有用处。第三是解析邻接于氧原子的质子，再根据具体情况设计双照射及其他特殊技术。

（1）酯侧链的光谱特征

具有酯侧链的化合物红外光谱具有酯羰基吸收。具有酯侧链的倍半萜，质谱很容易丢失其酸部分，因此可从 FAB-MS 化学离子源质谱 CI-MS 或场解吸质谱 FD-MS 测得正确的分子离子峰；再从分子离子峰及丢失的酯侧链质量数推定其 C、H、O 原子个数；再从^{1}H-NMR 谱中解析其酯部分。一般萜类常见的酯侧链及个别的化学位移数据如图 6-3 所示。由于侧链上的质子受母核部分的影响较小，因此化学位移值一般不会有很大变化。

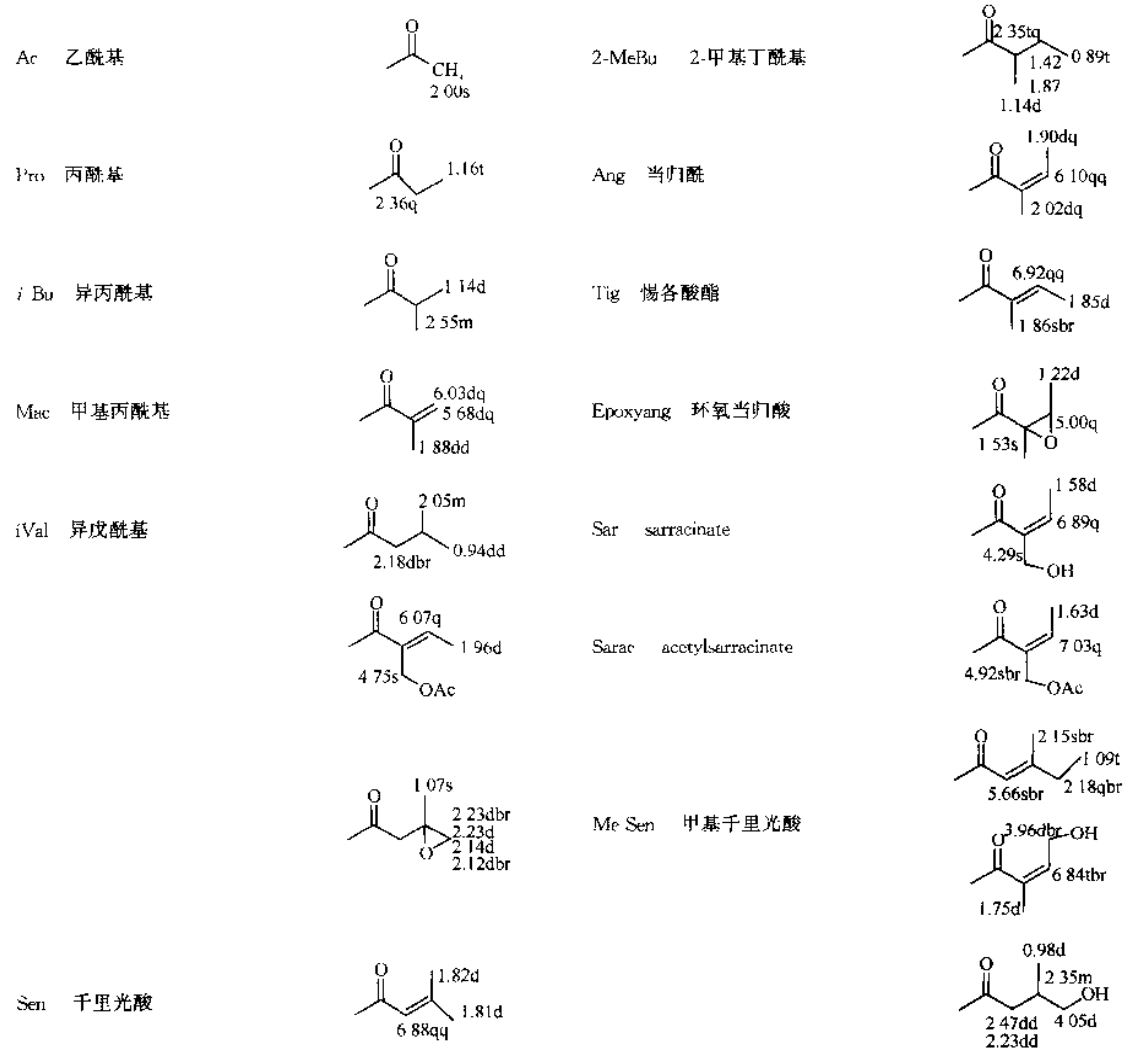


图 6-3

（2）角甲基及环外亚甲基

由于甲基都是三个质子，而环外亚甲基则为低场区一对峰型相同的质子，因此很容易辨认。在实际解析中经验性的辨认各种峰型也很重要，对推定基本母核也极为有用。图 6-4 列出几种倍半萜类的甲基及环外亚甲基的化学位移值，并请参阅后列的一些倍半萜类^{1}H-NMR 数据。

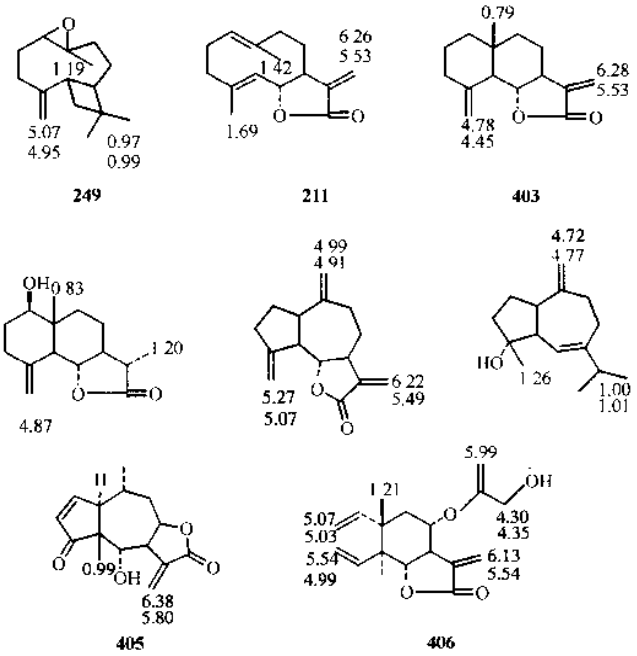
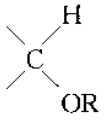
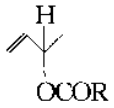
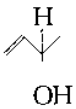
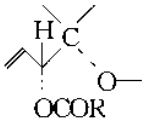


图 6-4 几种倍半萜类的甲基及环外亚甲基的化学位移值

(3) 连接氧原子的质子

一般  化学位移为 3.4～6.2，R═H 则化学位移为 3.4～4.6；R 为酯基团化学位移为 4.9～5.9；如邻  接于氧的质子，其 β-位有羟基双键等，则化学位移值向低场转移。

 质子化学位移在 4.5 以上，化学位移可达 6.00；如  化学位移甚至可高达 6.7。

一般邻接环氧的质子化学位移为 1.6～2.8 ppm，如邻近有 α-位羟基或酮基则可高达 3.4，邻接内酯环上氧原子的质子，对各种类型化合物常有差异。大体上馏牛儿内酯类高于愈创木内酯类。又高于桉叶内酯类，但这些都取决于邻近结构环境的影响，鉴别时要根据其他光谱数据及生源角度统一分析。

倍半萜中 CH、CH_2 一般在较高场，而且相互重叠，即使在 400MHz，有时仍不可避免。由于倍半萜类结构类型很多，研究结构必须借助去偶技术，通过照射确定各组质子的归属。一般去偶首先从低场部分的烯质子及邻接于氧原子的质子开始(这些较低场的质子一般分离得比较好)，顺序搞清各组质子的相互偶合关系，并确定其归属。

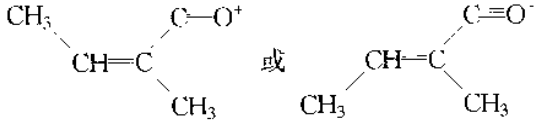
[实例] 从石胡荽(*Centipeda minima*)全草中分离得到六种倍半萜内酯[49]。

E-1 IR $\upsilon_{max}^{CCl_4}$ cm^{-1} 1785，1730，CI. MS 347$[M+1]^+$(100%) 247[M-100]$^+$(34)，83 (50)，^{1}H-NMR 1.06 s (3H)，1.24d (3H, J=7)，1.57d (3H, J=7)，1.68ddd (1H, J=2.11，15)，1.91dq (3H, J=2，7)，1.73d (3H，J=2)，2.23m (1H)，2.48ddd (1H，J=2，6.5，15)，2.94dd (1H，J=7.11)，3.88ddd (1H，J=11，3.5)；3.11dq (1H，J=7)，4.79ddd (1H，J=2，7，7)，6.03m (1H，J=7)，6.06dd (1H，J=2.5，6.5)，7.66dd (1h，J=3，5，7)，5.49 sbr (1H).

E-2 IR $\upsilon_{max}^{CCl_4}$ cm^{-1}，1785，1725，1735(肩)。CI. MS m/z (rel int.) 335 $[M+1]^+$(100)，217 [M88]$^+$

(75)。^{1}H-NMR:1.05d, (3H,J=7)1.06s (3H), 1.08d (3H,J=7),1.25d (3H,J=7),1.67ddd (1H,J=2.12,14),1.52d (3H,J=7)。2.22m (1H),2.99m (1H),2.49ddd (1H,J=2,7,14),2.83dd (1H,J=2,7,12),3.06ddd (1H,J=2,12),3.09dq (1H,J=7.12),4.75ddd (1H,J=2,6,7),5.41d (J=2)。6.08dd (1H,J=4,7),7.67dd (1H,J=2,7)。

从E-1质谱,化学离子源测得的分子离子峰一般为$[M+1]^+$,因此相对分子质量为346,主要碎片峰247$[M-100]^+$是典型的脱$C_5H_8O_2$,则可能为当归酸(ang)或巴豆酸(tig)。另外,出现的85峰为C_5H_7O,即



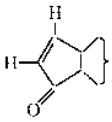
或

,也说明了上述结果。

从分子离子峰346,推定分子式为$C_{20}H_{26}O_5$(碳原子总数为20)。

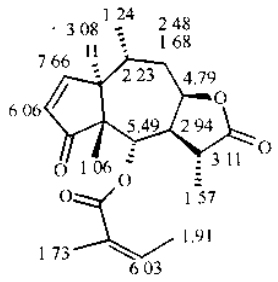
^{1}H-NMR分子中具有1.91dq(3H,J=2,7),1.73d (3H,J=2),6.03m (1H,J=7)为典型的当归酸(ang)的共振信号。照射1.91或照射1.78均能使6.03信号去偶。

分子中具有三个甲基1.06s,1.24d (J=7),1.57d (J=7)按此三个甲基无法推定母核。

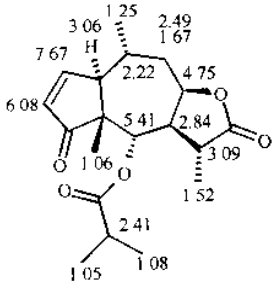
从低场质子6.06dd与7.66dd峰型为典型的  结构,照射6.06使7.66成d峰。

若照射7.66,除6.06成brs外,3.08去偶。分子中5.49信号为邻接于当归酸的质子,4.79可能为内酯环上邻接于氧原子的质子。照射4.79使2.48成dd、1.68成dd和2.94成dd。

照射1.57甲基则3.11成d峰;再照射3.11,除1.57甲基去偶外,2.94也去偶,照射2.23则3.08成d峰,1.24甲基及1.68,2.48质子去偶,因而推定E-1的结构为brevilin **407**。其各组质子的归属如下:

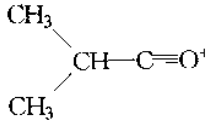


407



408

E-2的质谱分子离子峰335$[M+1]^+$ $C_{19}H_{26}O_5$、217$[M-88]^+$及75的碎片峰。为脱*i*-Pr-COOH及



,从^{1}H-NMR中有1.05、1.08两个甲基双峰及2.41m均与异丁酸一致。其他各组质子与E-1相同。因此,鉴定E-1为**407**,E-2为arnicolide (**408**),这类倍半萜过去仅从菊科堆心菊*Helenium*属植物中分离得到,均属于堆心菊素helenaline型,均具有较强的细胞毒作用。

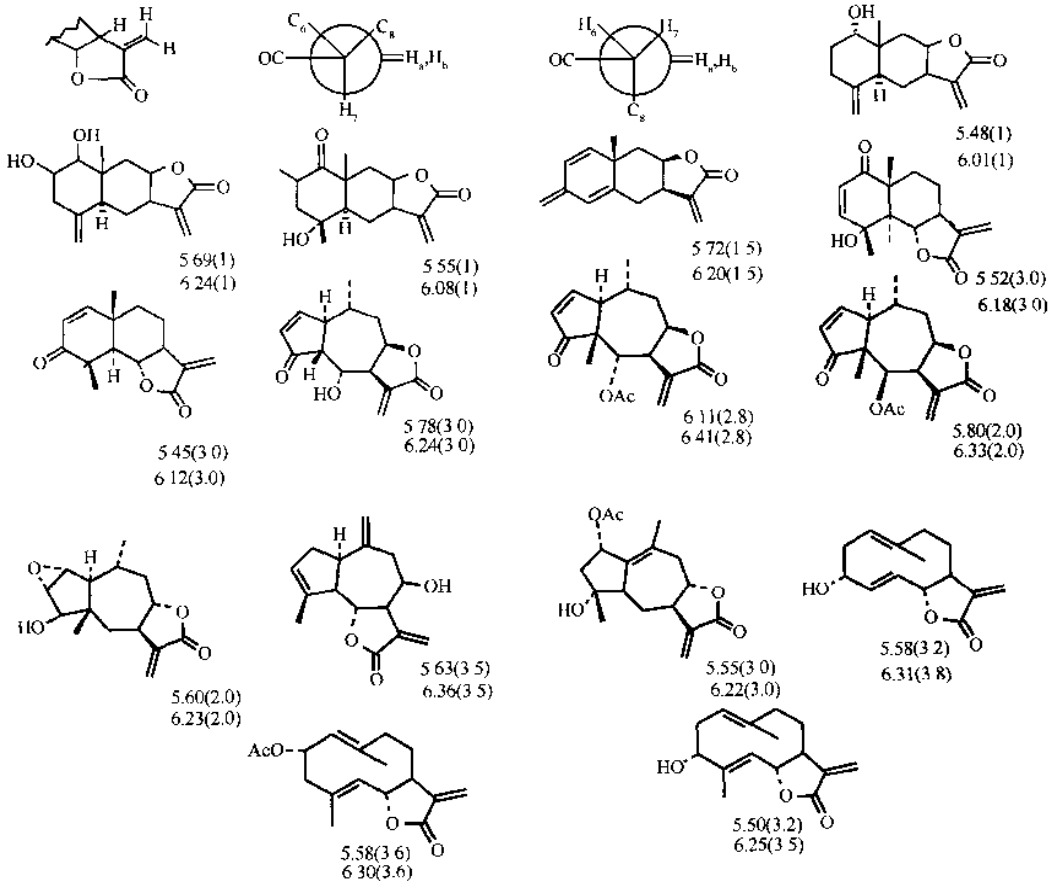
2. ^{1}H-NMR与立体化学

应用高兆赫核磁共振解析立体化学问题在倍半萜结构研究中极为重要,该方法主要利用下列原理:①核磁共振谱裂分常数的大小与其相对的立体化学关系密切;②官能团间不同的立体位置,屏蔽作用不同;③原子与原子间的NOE。

(1) 裂分常数与立体化学

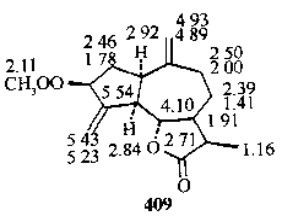
利用^{1}H-NMR信号的裂分常数推定结构,首先是利用决定内酯环立体化学的Samek规则[23]。倍半萜

内酯类很多具有 α-亚甲基-γ-内酯结构。其亚甲基上的两个质子，化学位移一个在 6 以上，一个在 6 以下，二者化学位移相差大多在 0.6ppm 左右。Samek 观察了一系列化合物中此两个环外亚甲基质子与 H-7 的 ^4J 长程偶合裂分常数，得出经验性的规律，即 $J_{反} \geqslant 3 \geqslant J_{顺}$，此规则主要应用于推定内酯环的立体化学[50]。

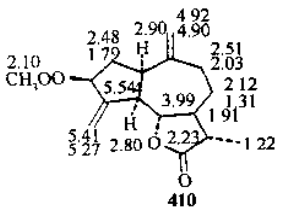


由单键构成的邻位质子，其相互的裂分常数应符合两面角规则和 Karplus 公式，而也能用于解决倍半萜的相对构型问题。主要利用一对立体异构体或同系物，比较其邻位质子对的不同两面角来推定其相对构型。

从兔耳枫（*Ainsliaea fragrans*）中分离得到一新倍半萜内酯**409**，按各种波谱数据解析核对已知化合物，其高兆赫核磁谱与另一化合物**410**极为相近，比较二者乙酰衍生物的 400MHz，^{1}H-NMR 其主要差别在于 H-11的化学位移（ppm）分别为 2.23 和 2.71，$J_{7,11}$前者为 11.5，后者为 7，因而推定**409** 为 C-11-β-甲基的二氢 zaluzanin，而**410** 为 C-11-α-甲基[51]。

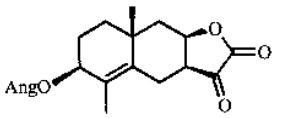


裂分常数 J(Hz)：1,2=8；1,5=8；2,2′=14；2,3=7；5,6=6,7=10；3,15=2；7,8=4.5；7,8′=10；8,9=8,9′=8′,9=4；9,9′=13；8,8′=13；7,11=11,13-7

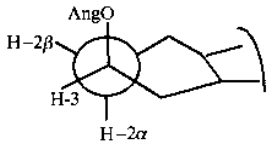


裂分常数 J(Hz)：1,2=1,2′=1,5=9；2,2′=14；2,3=2,3′=7.5；3,15=5,15=2；5,6=6,7=10；7,8=4；7,8′=11；7,11=11.5；8,8′=13；8,9=8,9′~4；8′,9=4；8′,9′=10；11,13=7

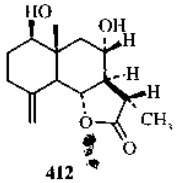
通过不同立体环境下质子间裂分常数，按两面角规律定其立体化学，以 **411** 为例，其 C-3 位接一个当归酸基的立体化学，可以 $J_{2\alpha,3}$ 和 $J_{2\beta,3}$ 来解决，实测 H-3 的 $J_{2\alpha,3}=J_{2\beta,3}$ 约为 7，当归酸基应为 β 构型，若为 α 构型，则显然 H-3 与 H-2$^{\alpha}$ 呈 180°角，$J_{3,2\alpha}$ 应较大，约为 12 左右。



411



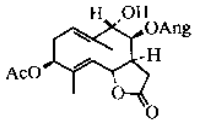
又如 8-α 羟基-11β,13-二氢 reynosin（**412**），其 C-11 的立体化学常可依靠 $J_{7,11}$ 来解决，C-8 羟基则从 $J_{7,8}$ 来解决。实测 $J_{7,8}=11.5$，$J_{7,11}=12$。均为反式的裂分常数，因此 H-8 和 H-11 均为 β 构型[25]。



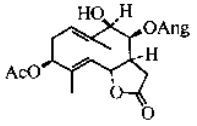
412

(2) 邻近基团的屏蔽作用

有机化合物质子的化学位移，由于受到邻近极性基团各向异性的影响，使 δ 值产生变化，这种变化也可以通过对比来解析结构。从 *Lasiolaena sanloii* 中分离得到一对立体异构体 **413**、**414**，它们的^{1}H-HMR 差别仅在于 H-7 的化学位移(ppm)分别为 3.33 及 3.00，推定 H-7 化学位移值为 3.33 的化合物，C-9 羟基应为 α，即为 **413**。由于 H-7 受 C-9 位羟基的屏蔽作用而化学位移略低。而 H-7 为 3.00 者，C-9 羟基为 β 构型 **414**，二者 $\Delta\delta$ 为 0.33。



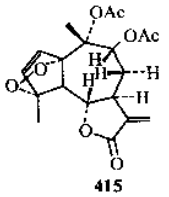
413



414

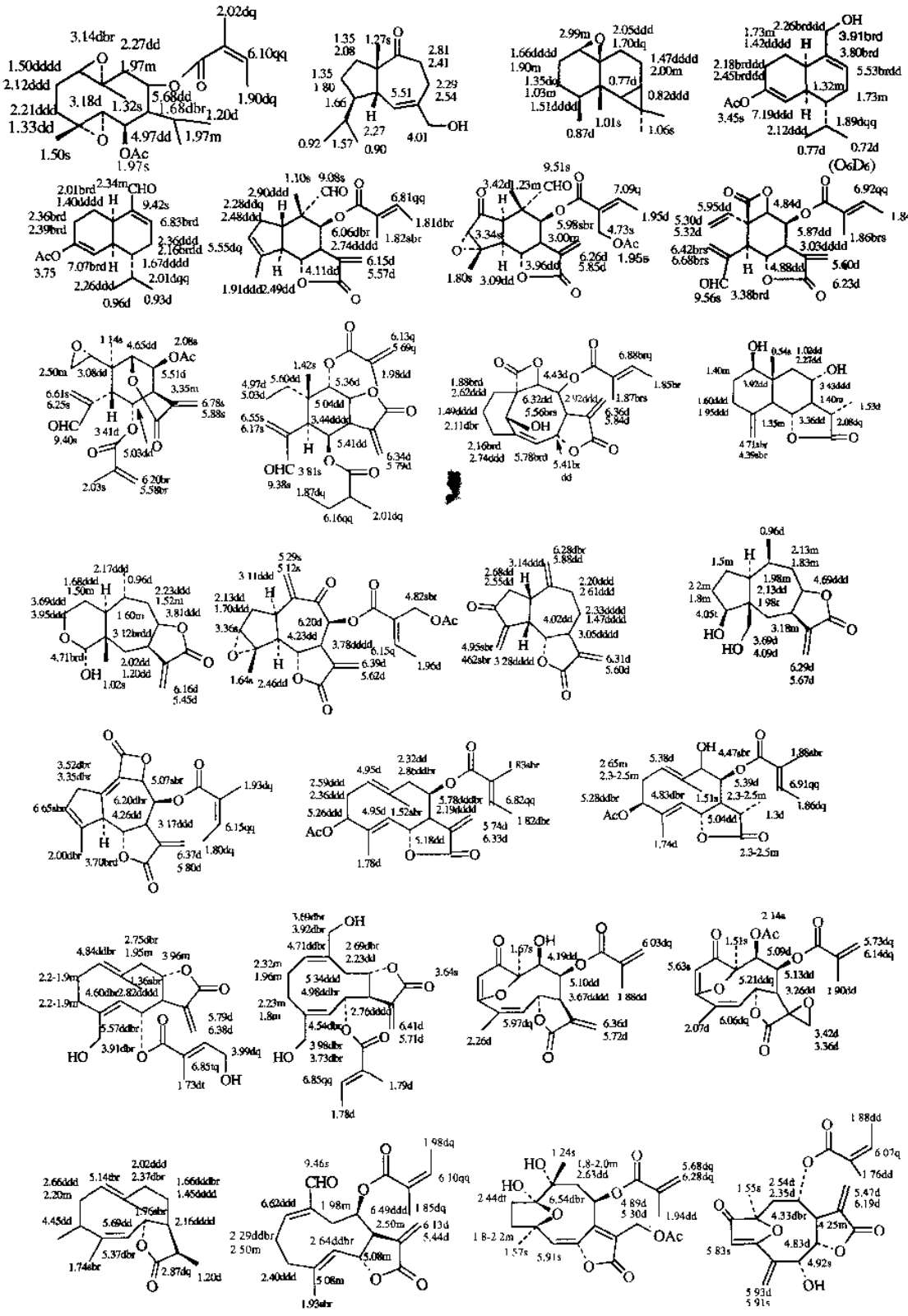
(3) 核的 Overhauser 效应(NOE)

NOE 谱及 NOE 差谱对推定天然产物立体化学极为重要，如从蓍草 *Achillea depressa* 中分离得到一过氧化合物 apressin（**415**），从 Samek 规则及 $J_{6,7}=10.3$ 推定内酯环的连接为反式，其 H-6 的化学位移比一般高出约 0.4，是 C-2、C-3 键的各向异性所致。即此双键与 H-6 在同一面，即 H-6β。NOE 实验观察 H-2 及 H-3 均与 H-6，H-9，H-8β 有 NOE，因此 H-9 为 β，即 OAc 应为 α 构型。



415

后附几种倍半萜类^{1}H-NMR 的化学位移数据，以供理解不同化学环境与化学位移的关系，均系于 $CDCl_3$ 中测定，非 $CDCl_3$ 则另行注明。



四、倍半萜类的^{13}C-NMR

^{13}C-NMR 是 20 世纪 70 年代发展起来的技术，也是测定天然产物化学结构的重要工具之一。一般

^{13}C-NMR是通过宽带去偶(或称质子噪声去偶)使化合物中不同类型的碳原子得到不同的化学位移信息，每一个碳原子都能得到一个碳原子信号。再使用偏共振(off resonance)技术，从氢原子与碳原子间的异核裂分以区别各处碳原子所连的氢原子数目，即区分各个碳原子为伯碳、仲碳、叔碳和季碳。对结构较复杂的化合物，由于化学位移值相近，各个碳原子的裂分峰相互重叠而产生很多困难，一般常可配合以部分弛豫时间的测定、PRFT、弱噪声去偶WND、自旋回波(spin.echo)等辅助技术。目前则使用了更为有效的INEPT(insensitive nuclei enhanced by polarization transfer)、DEPT(distortionless enhancement by polarization transfer)等技术。

从^{13}C-NMR中各组信号的化学位移，可判断该碳原子的大致化学环境，由于^{13}C-NMR谱宽一般从0～240ppm，各个原子或基团间和各向异性效应的影响远比^{1}H-NMR小。因此化学位移与结构间的关系，比^{1}H-NMR有较大的规律性。20世纪七八十年代^{13}C-NMR技术曾发展了单频选择性去偶和应用电子计算机解析和预测技术。由于近20年来二维NMR技术的发展对天然产物结构研究无疑又是一大飞跃，因此上述技术很少应用。图6-5中收集了一些倍半萜类的^{13}C-NMR数据以供参考。

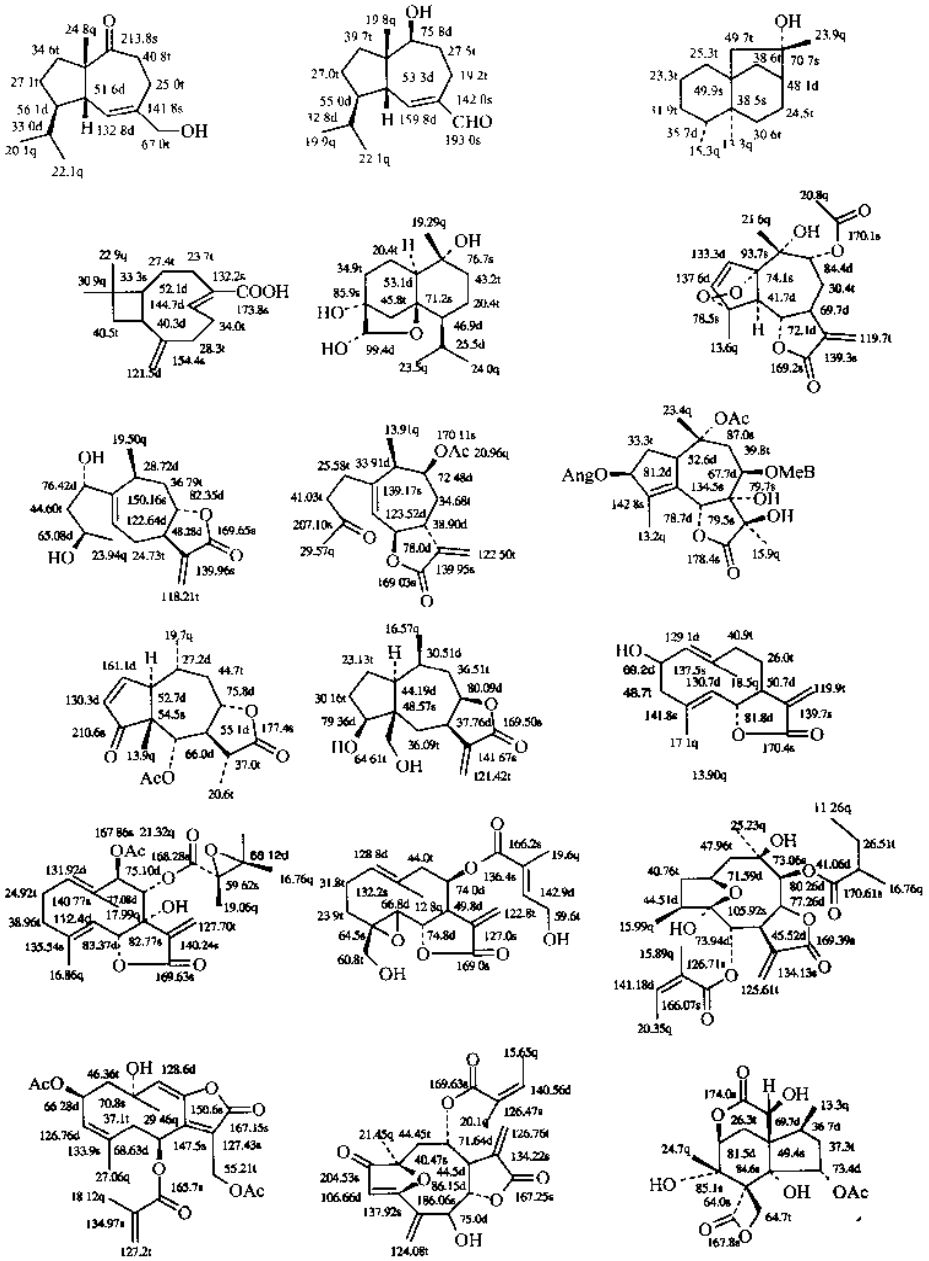


图6-5

应用波谱推定天然产物结构，是一门比较复杂的学问，特别对一些光谱知识不是非常丰富的科学工作者来说，最重要的方法是与模型化合物进行比较，参照前人报道的结果解决具体问题。

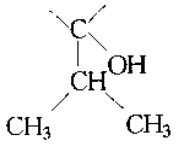
第七节 结构研究实例

天然产物的结构研究在20世纪50年代以前，一般被认为是相当复杂艰巨的研究工作，因而和立体化学、反应机制并列为有机化学的理论部分。当时结构研究主要靠设计大量降解反应，鉴定降解产物（降解到已知化合物或经人工合成降解产物而确证），根据一系列化学降解产物，逆向推理，推定起始产物的结构。由于天然产物结构复杂，反应产物也非常复杂，必须先分离纯化。由于早期工作，层析手段尚未发展所以难度很大，又由于这种分离工作上的问题，往往收得的产物不是解析结构的关键产物，也常会把解析结构引上歧途，因而推定的结构经常有误，一项结构的推定有时要数十年的努力方能完成。

20世纪50年代以后，物理方法开始发展，对结构测定提供了许多方便，也大大缩短了这种进程。因此60年代结构研究的特点，主要是经典的降解反应与光谱方法密切结合，由于物理方法的发展，紫外光谱、红外光谱、质谱和核磁共振谱，它们在结构研究中解决问题的角度不同，各种方法本身都有其各自的局限性，因此四者发展的前景也各不相同。90年代质谱与核磁共振技术的发展尤为特殊，仪器分析工作者总是千方百计地发展自己的研究领域，都希望用单一的仪器方法解决整个结构问题，这对质谱工作来说，对基本骨架已知的化合物，利用碎片峰解析特定结构常是可能的。核磁共振技术的飞跃发展，60年代发展了双共振技术，70年代发展了超导磁铁和脉冲傅里叶变换，导致了^{13}C-NMR及近代二维谱的发展，使单纯使用核磁共振技术解决结构问题成为可能。X射线衍射技术由于近代计算技术的发展，大大加速了数据处理过程和提高了精确度，主要用于难度较大和含量较低样品的结构测定，以及最终确证推定的结构式。对倍半萜类，由于其结构比较复杂，加上一系列的立体化学问题，主要在60年代和70年代才得到较大发展。虽然近代物理方法的发展，在天然产物结构研究上基本可以取代降解反应，但作为有机化学来说，化学反应是基础知识，无论如何是不可能被仪器分析取代的，在这里主要介绍几项倍半萜结构测定实例，以反映60年代以来结构研方法的发展。

一、jaschkeanadiol的结构

jaschkeanadiol（**416**）是从 *Ferula jaschkeana* 中分离得到的一种倍半萜，MS 238[M]$^+$。分子式为$C_{15}H_{26}O_2$，主要碎片峰为195、177，^{1}H-NMR 0.88d(3H,J=7Hz)，0.91d(3H,J=7Hz)，1.00s(3H)，1.80 brs(3H)，3.87dt (1H,J=10.5)，5.4t(1H,J=6)。jaschkeanadiol以乙酐吡啶酰化得单乙酰化衍生物，其MS 280[M]$^+$。主要碎片237、177。

从上述数据推测，jaschkeanadiol碎片峰195[M-43]$^+$的归属。一般情况－43的碎片首先考虑是乙酰基，但此化合物中^{1}H-NMR谱无乙酰基的甲基信号（一般是2.10左右）。其次是考虑脱异丙基，一般结构中异丙基是不易脱掉的，往往是邻接羟基  才有可能。

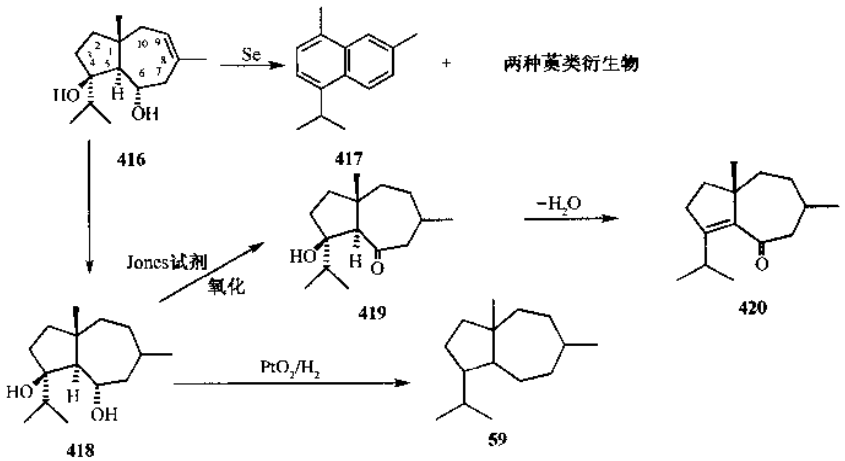
177的碎片峰为[195-18]$^+$是脱水峰，即分子中另有一个羟基的邻碳有氢原子。

分子中有四个甲基峰，^{1}H-NMR谱，两个为CH—CH_3，一个为季碳甲基，1.80的甲基一般为邻接双键的甲基，此甲基成宽单峰，往往是有长程偶合即CH_3—C═CH的部分结构。3.87为邻接羟基的质子，5.4为烯质子，峰型成三重峰，裂分常数为6，则是CH_2—CH═C。

jaschkeanadiol的乙酰化物，分子离子峰280，是单乙酰化物，即jaschkeanadiol分子中只有一个能被酰化的羟基，另一个羟基则不被酰化为叔羟基。

硒脱氢是经典方法中确定基本母核的有效方法。jaschkeanadiol的脱氢产物有四种，其中两种为$C_{15}H_{18}$的蓝色的(azulene)类衍生物，而主要产物鉴定为**417**，此脱氢产物当然有可能解释为六-六环倍半萜，但在倍

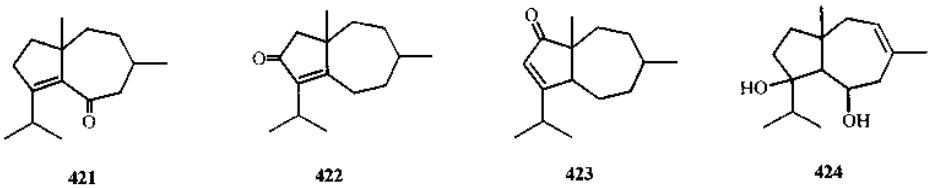
半萜化学中五-七环的化合物脱氢时常会重排得萘类衍生物。jaschkeanadiol 的脱氢产物中还得到蒽类衍生物，这是 daucane 型 **59** 倍半萜的典型脱氢产物。



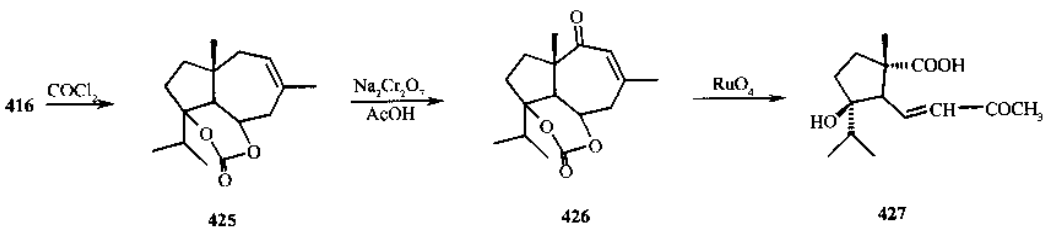
jaschkeanadiol 以 PtO_2 接触氢化，得其二氢化合物 $C_{15}H_{28}O_2$（**418**），再经 CrO_3 氧化得到一种羟基酮 $C_{15}H_{26}O_2$（**419**）。其红外光谱有 3400cm^{-1}、1020cm^{-1}的羟基吸收及 1690 的酮基吸收，此羟基于 5% KOH 的乙醇溶液中则脱水形成 α,β-不饱和酮 **420**。其紫外吸收光谱具有 256nm 的吸收红外光谱有 1665cm^{-1}共轭羰基吸收及 1600cm^{-1}的双键吸收。

综合上述，结果 jaschkeanadiol 的基本母核为 daucane，由于质谱脱 C_3H_7，则异丙基旁有一个羟基。另一个羟基的位置问题，由于一个羟基能氧化成酮，此羟基酮又能脱水成 α,β-不饱和酮，因此另一羟基的位置有三种可能，即 2 位、3 位和 6 位。它们相应所成的 α,β-不饱和酮有可能为**421～423**。

由于 jaschkeanadiol 的^{1}H-NMR 谱有 3.87dt 峰，$J=10,5$，呈典型的 AB_2X 型，即有的部分结构，只有在 6 位符合这种条件。另外，jaschkeanadiol 的核磁振谱中有一个双键甲基，必然双键为 C-8、C-9，即平面结构为 **424**。



jaschkeanadiol（**416**）立体结构的确定，**416** 以 $COCl_2$ 保护羟基，并经 Na_2CrO_7 再 RuO_4 氧化，收得已知绝对构型的化合物**427**，因而推定其立体结构为**416**[53]。



二、莽草素 anisatine 的结构

莽草（*Illicium lanceolatum* A. C. Smith），本草记载治小儿伤寒用莽草汤，莽草叶治眼疾。本品极毒，可用于毒鼠、毒虎豹等猛兽。由于莽草外形与大茴香（*I. verum*）相近，大茴香无毒，为常用食用香料，因此莽

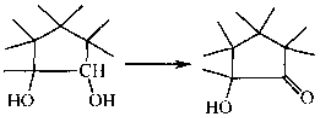
草常易被误食而引起中毒。

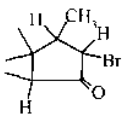
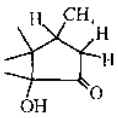
莽草果实的有毒成分，19 世纪已开始研究，1952 年才分离出纯品莽草素和新莽草素 neoanisatine (**429**)。莽草素 LD_{50}为 0.6mg/kg，比其他中枢神经兴奋的植物成分马钱子碱 strychnine(5mg/kg)、苦味毒(picrotoxin)(4mg/kg)为强。

莽草素熔点 227～228℃，$[\alpha]_D^{20}$ −28°(*c* 2.0，二氧六环)，分子式为 $C_{15}H_{20}O_8$，为高度氧化的倍半萜，各种衍生物均可结晶，初期工作由于均在 NMR，MS 技术广泛使用之前，因此结构的推定是相当困难的。莽草素在酸中稳定，碱中极不稳定，在 $NaHCO_3$ 水溶液中异构化成无毒的莽草素酸(anisatic acid，**430**)。

莽草素 (**428**)，IRυ_{max} 1826cm^{-1}(β-内酯)，1739cm^{-1}(δ-内酯)，MS 328 $[M]^+$ $C_{15}H_{20}O_8$ 以 $KMnO_4$/HOAc 氧化成失碳莽草素(noranisatine，**431**)，$C_{14}H_{18}O_7$，比莽草素本身少 CH_2O。其 IR 1832、1778，分子中仍保留了 β-内酯，而 δ-内酯消失，新增加了 γ-内酯。UV 无吸收。^{1}H NMR 有三个能被重水交换的羟基质子，失碳莽草素以过碘酸或四乙酸铅氧化，耗费一分子试剂得一酮醛(**432**)，此酮醛以 $KMnO_4$ 氧化得酮酸(**433**)。

失碳莽草素(**431**)乙酰化得单乙酰化衍生物，说明分子中其他两个羟基不易酰化，为叔羟基。^{1}H-NMR 谱有一个 4.60 dd 低场转移至 5.67 dd，表示羟基已经乙酰化。

失碳莽草素以 CrO_3 氧化成失碳莽草酮(noranisatinone，**434**)，$C_{14}H_{16}O_7$。IR 1830cm^{-1}(β-内酯)，1789cm^{-1}(γ-内酯)以外又增加了一个 1754cm^{-1}的五元环酮(一般五元环酮为～1750 cm^{-1}，六元环酮为～1710 cm^{-1})，示为  ，失碳莽草酮以过碘酸氧化也能收得上述酮酸**433**。

失碳莽草酮以 Br_2 溴化成 α-溴代物，此溴代物可用锌粉还原成失碳莽草酮。此溴化物的^{1}H-NMR 谱，1.25d (3H，J=7) 为 CH—CH_3，1.60s (3H) 为 C—CH_3 2.90，5.80，可被重水交换，为两个羟基，4.20 (2H，J=7.0) 2.4～3.1 (2H)，4.66 ABX，J_{AB}=13。J_{AX}=0.8，J_{BX}=5.3(1H)。照射此质子与 2.4～3.1 质子去偶合示为 —CH_2—CH—O—。4.65 (1H，J=11.0) 另有 2.00m (1H) 与 4.65 质子去偶并与 1.25d (3H)去偶。因此推定具有  的部分结构，即失碳莽草素有  的部分结构。

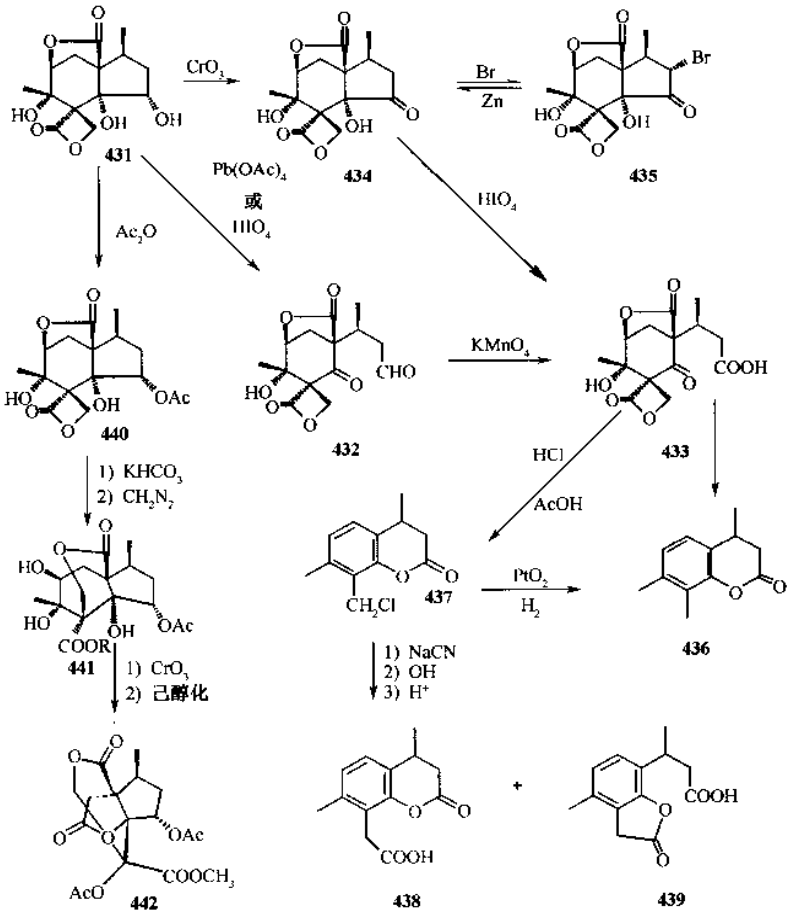
上述酮酸以 HI 还原形成一种氢化香豆素(**436**)。此氢化香豆素的结构经光谱方法推定，并经人工合成证明结构为**436**。

若将酮酸(**433**)以 HCl、HOAc 处理，得一含氯化合物，此氯化物经 PtO_2 接触氢化也能得到上述氢化香豆素(**436**)。若将含氯化合物 **432** 以 NaCN 氰化，再碱水解，然后于酸中使内酯环化，得到**438**、**439** 两种内酯。**438** IR 具有 1775、1710 吸收，**439** IR 具有 1805、1710 吸收，因而证明失碳莽草酮的五元环酮与一六元环相接，即具有如图 6-6 所示的部分结构。

失碳莽草素用光气制成碳酸酯，以保护 1，2-二醇后第三个羟基不被酰化，是为叔羟基。由于前述的酮酸不再消耗四乙酸铅或过碘酸，因此另一羟基不可能邻接于 C-7a 或 C-4 由于失碳莽草酮易于 HI 脱氢芳香化(反应中先行脱水)因而三个羟基接于 C-5，即推定失碳莽草素具有如图 6-7 所示的部分结构。此部分结构原子总数为 $C_{12}H_{15}O_4$。

从失碳莽草素分子式 $C_{14}H_{18}O_7$ 相减去 $C_{12}H_{15}O_4$，尚有 $C_2H_3O_3$，由于 IR 指示分子中尚有两个酯羰基，即 —C(=O)—，—C(=O)—O— ，故所剩为三个氢原子。由于前述溴化物**435** 的^{1}H-NMR，推定有 —CH_2—CH—O— 的部分结构，此三个氢原子只可能接于 C-6、C-7 处。

失碳莽草素(**431**)乙酰化得一单乙酰化物，再以 $KHCO_3$ 处理得一内酯羧酸(**441**)，再以 CH_2N_2 酯化，此化合物的 1826(β-内酯)、1780(γ-内酯)均消失，而产生 1730(δ-内酯)，另产生一个 1，2-二醇，此化合物消耗一分子四乙酸铅而对过碘酸不易反应，表示经此重排后新出现的一个羟基与原来羟基相邻并为反式。按此



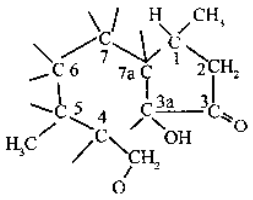


图 6-6

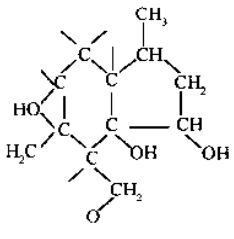


图 6-7

推定其部分结构如图 6-8 所示。

按此部分结构两个羰基的连接，只有(1)A-C、B-D 和(2)A-D、B-C 两种可能，前者为 β-内酯和 γ-内酯，而后者则为 γ-内酯和 δ-内酯。前者**440** 与失碳莽草素的红外光谱符合。

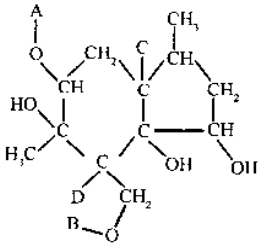
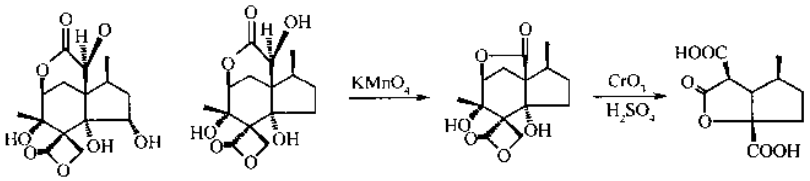


图 6-8

失碳莽草素的立体化学：由于上述单乙酰去甲莽草素，经 $KHCO_3$ 处理得 **441**，提示 C-6—O，C-4—CH_2—O—与 C-7a 均在同一个平面，而**441** 消耗一分子四乙酸铅而不消耗 HIO_4，即 C-5—OH 与 C-6—OH 为反式。失碳莽草素本身能消耗一分子 HIO_4，并能与 $COCl_2$ 呈五元环碳酸酯，则 C-3—OH 与 C-3a—OH 为顺式；又**441** 经 CrO_3 氧化的得到化合物**442**，另增加一个五元环内酯，证实 C-3a—OH 与 C-7a—C7 键为同一方向，即失碳莽草的立体化学为**431** 式所示，而 C-1 位甲基的立体化学无法用光谱和化学方法确定，最终由 X 射线衍射解决。

关于莽草素的结构，由于莽草素以 $KMnO_4$ 氧化成去失碳莽草素而失去 CH_2O，前者有四个羟基，后者仅有三个羟基，前者 IR 为 1826、1739，即一个 β-内酯和一个 δ-内酯，而后者 IR 为 1832、1778，即一个 β-内酯和一个 γ-内酯，说明莽草素的六元环内酯氧化失去—CH_2O—而成五元环内酯，即莽草素的结构为**428**。莽草素的结构最终经 X 射线衍射确证，其全合成看来也非常困难，因而迄今尚未解决。



428 **429** **443** **444**

新莽草素(**429**)经 $KMnO_4$ 氧化也失去 CHO 而成失碳新莽草素(**443**)。失碳新莽草素以 CrO_3/HOAc 氧化则得到酮酸(**433**)。说明新莽草素的结构仅比莽草素少一个羟基，立体化学除 C-3a 羟基外完全相同，又失碳新莽草素(**443**)，以 CrO_3/H_2SO_4，氧化得到化合物**444**。此二羧酸化合物能以乙酐脱水成酸酐，即此两个羧酸基在同一面，即 C-3a 的羟基的立体化学也与莽草素一样为 α 构型[54~58]。

三、*Helianthus ciliaris* 中倍半萜的结构

从菊科植物 *Helianthus ciliaris* 中分离得到两种倍半萜Ⅰ和Ⅱ，Ⅱ为Ⅰ的乙酰衍生物。它们的结构主要利用双照射技术推定(表 6-2)。

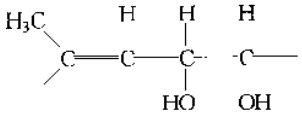
根据上述^{1}H-NMR 一般解析：Ⅰ分子中 1.00s 为甲基，1.72brs 为邻接于双键并有长程偶合的甲基，3.44 和 3.98 二者为邻接于羟基的质子，5.77 和 6.14 系典型的内酯环的环外烯质子，4.62 为内酯环邻接于氧的质子，5.51 则系烯质子(一般在这种化学位移可能为烯质子，也可能为邻接于酯的质子，而Ⅰ分子中四个氧的性质均已确定，因此只可能是双键质子)。Ⅱ的^{1}H-NMR 大体与Ⅰ相似，差异主要多了一组 2.08s (3H) 的乙酰基质子。另外，3.44 邻接于羟基的质子高场转移至 4.63 成为邻接于酯的质子，即为Ⅰ的乙酰化物。进行双照射以搞清各组质子的偶合关系，一般先从较低场质子开始，顺序的从偶合关系理出结构片段，并必须注意去偶后的峰型，以了解各自的偶合常数，便于进一步解析结构及立体化学。

表 6-2

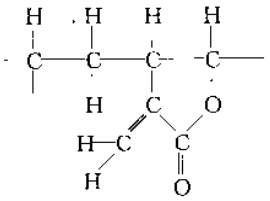
项目	Ⅰ $C_{15}H_{20}O_4$(282)	Ⅱ $C_{17}H_{22}O_5$(284)
H-14	1.00 s(3H)	1.08 s(3H)
H-6	1.34 dt (J=13,12)	1.34 dt
H-15	1.72 br s (3H)	1.72 br s
H-9	1.93 dd (J=15,2)	1.99 dd
H-6	1.99 ddd (J=13,6.5,3)	2.00 dd
Ac	——	2.08 s(3H)
H-9	2.17 dd (J=15,6.5)	2.13 dd
H-5	2.22 dd br (J=12,3)	2.24 dd br
H-7	3.02 dt br (J=12,6.5,1)	3.03 dt br
H-1	3.44 dd (J=1,0.5)	——
H-2	3.98 dd (J=2.5,1)	3.92 dd
H-1	——	4.63 dd
H-8	4.62 dt (J=2,6.5)	4.58 dt
H-3	5.51 ddq (J=2.5,1,0.5)	5.52 ddq
H-13	5.77 d (1)	5.64 d
H-13	6.14 d (1)	6.14 d

照射 3.44 则 3.89 去偶，照射 3.99 则 3.44、5.51 去偶。

照射 5.51 则 3.98、1.72 去偶（1.72 宽单峰成尖单峰，远距离偶合消失），即分子中有下列片段：

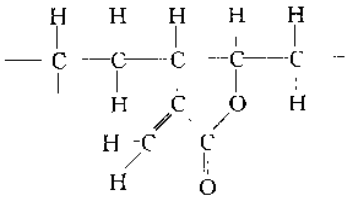


照射 3.02 则 6.14、5.77、1.99、1.34、4.62 去偶，其中 6.14 和 5.77 为环外亚甲基质子，而 1.99 与 1.34 均有较大的裂分常数 13，一般为同碳偶合，再照射 1.99 与 1.34，除相互去偶外 3.02 也去偶。另外，2.22 质子也去偶，因此又可理出如下结构片段：

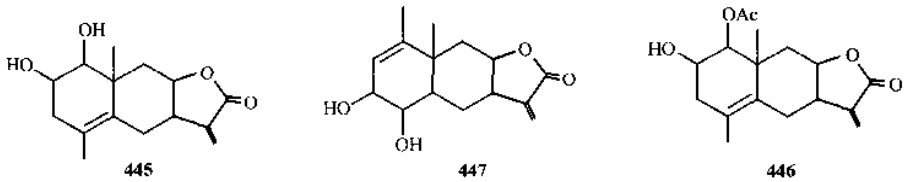


若再照射 2.22 则得 1.99 及 1.34 去偶外不影响其他质子。

照射 4.62 则 3.02、2.17、1.93 去偶。其中 2.17、1.93 一对质子有 J=15 的同碳裂分，继续照射 2.17 及 1.93，除 4.62 去偶及相互去偶外无其他偶合关系，因而又可理成如下片段：



上述两片段碳氢原子总数为 $C_{13}H_{17}O_4$，与分子式比较尚有 C_2H_3，由于分子中尚有一个 1.00s 的甲基，因此应为连接季碳的甲基。将此三个片段连接仅有两种连接法，即下列两种可能结构**445** 和 **447**[59]。



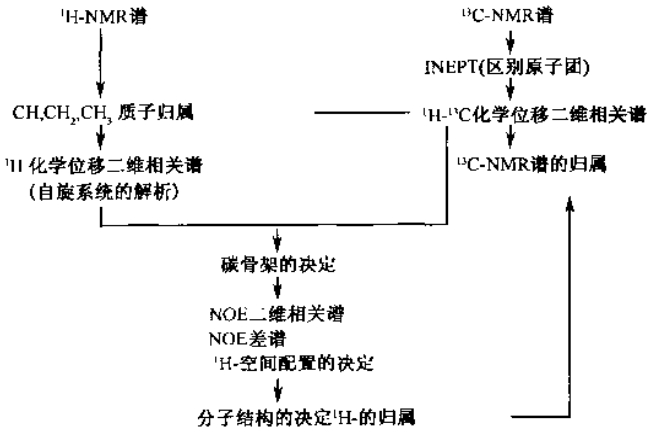
445 447 446

由于倍半萜系三个异戊烯首尾连接而成，因此结构应符合异戊烯规律，而**447** 与生源不符，因此化合物Ⅰ的结构式为**445**，而化合物Ⅱ系 H-1 质子从原来 3.44 低场转移至 4.63，因此Ⅱ的结构为**446**。

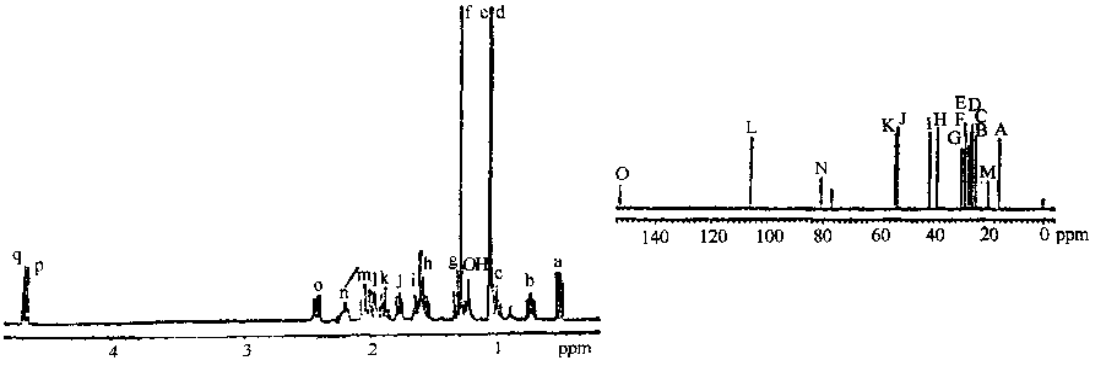
目前核磁共振的双照射技术已较少使用，大部分已为一次实验可将各组偶合关系都搞清楚的 H-H COSY 代替，省去了一个个质子分别照射的麻烦，但解析结构的思维还是一样的。

四、spathulenol 的结构

核磁共振技术的发展，由于 20 世纪 70 年代超导磁铁和脉冲傅里叶变换技术的进步，对核磁共振仪器、NMR 测定技术和数据处理上产生了飞跃，因而出现了 400MHz、600MHz 等高磁场核磁共振仪器。^{13}C-NMR 有关的一系列技术及二维谱，稻垣等根据近代核磁共振方法设计了一个解析系统，又成功地用于倍半萜结构的解析，现以 spathulenol 为例介绍这一解析系统的具体应用。



从柚子的芳香油中分离得到一种倍半萜成分 spathulenol（**448**），进行了一系列核磁共振测试。^{1}H-NMR 400MHz，^{13}C-NMR 100MHz。spathulenol ^{1}H-NMR 谱有 18 组共振信号，共 24 个质子。q,p,o,n,m,l,k,j,i,h,g,f,OH,e,d,c,b,a,其中 f,e,d 为甲基 q 与 p 为烯质子。^{13}C-NMR 有 15 组信号，为 15 个碳原子，O,L,N,K,J,I,H,G,F,E,D,C,B,M,A,其中 O 化学位移 152，L 化学位移 106 为双键碳，N 化学位移为 81 系邻接于 OH 的碳原子(图 6-9)。



(a) 400MHz ^{1}H-NMR谱 (b) 100MHz ^{13}C-NMR谱

图 6-9 spathulenol

^{13}C-NMR 经 INEPT(intensitive nuclei enhanced by polarization transfer)或 DEPT(distortionless enhancement by polarization polarization transfer)测定。INEPT 及 DEPT 主要用于区分伯碳、仲碳、叔碳和季碳原子。过去区分四者主要用偏共振去偶，偏共振去偶的结果使—CH_3 为 q 峰，CH_2 为 t 峰，CH 为 d 峰，季碳为 s 峰，对比较复杂的化合物，其中有些碳原子的位移值相近，因此各个共振信号相互重叠，无法辨认各组碳信号的峰型，而 INEPT 及 DEPT 则通过改变脉冲序列，逐个加以区别。如图 6-8 中(e)为 spathulenol 的^{13}C-NMR 宽带去偶谱，(a)为 INEPT 区别 CH_3、CH_2、CH 的脉冲序列。

(b)为 $\Delta = 5.6$ms CH_3，CH 均为正峰，而 CH_2 为负峰。(c)为 $\Delta = 3.6$ms。主要峰为 CH，(d)为 $\Delta = 1.8$ms，CH_3、CH_2、CH 均为正峰。图 6-10 中 CH_2 为四个，即 I,H,D,B,C；CH_3 为三个，即 A,C,F，四个 CH 为 K,J,G,E；其余 M,N,O 均为季碳。图 6-11 为^{1}H-^{13}C 化学位移相关二维谱，图 6-11 中横坐标为^{1}H-NMR，纵坐标为^{13}C-NMR，^{1}H-^{13}C 相关谱出现交叉峰代表该氢与该碳连接。图 6-11 中 Jn,Kg,Ih,Ij,Ho,Hm,Ga,Fe,Cf,Di,Dk,Bl,Bc,Ad,Eb 相关。

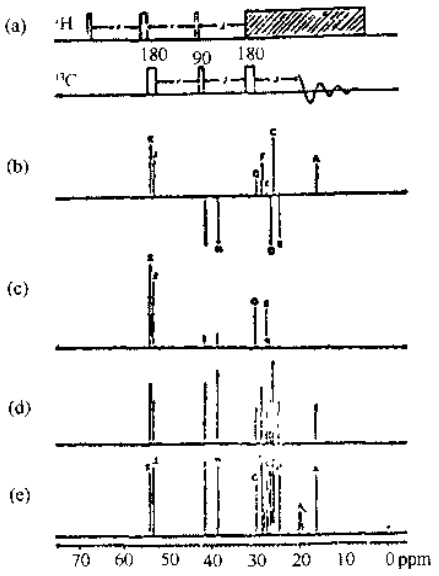


图 6-10　spathulenol ^{13}C-NMRY INPET

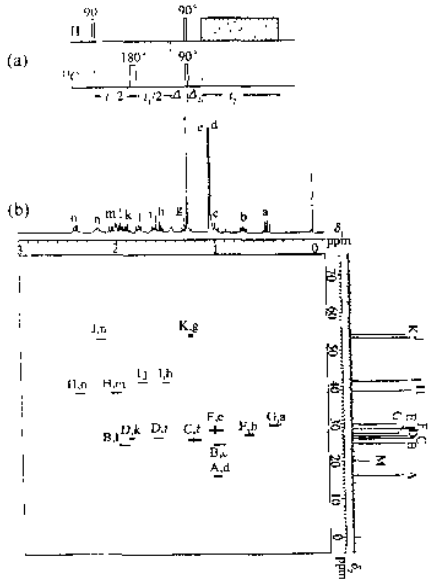
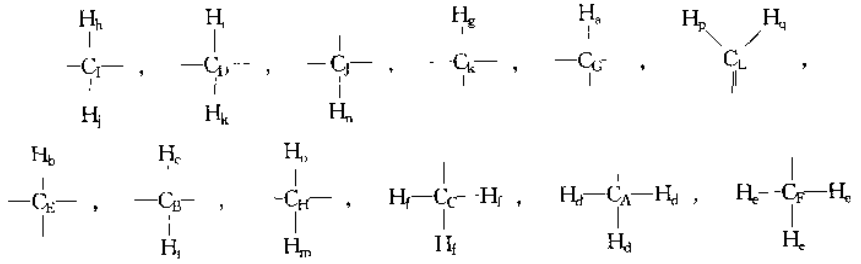


图 6-11　spathulenol ^{1}H-^{13}C 化学位移相关二维谱



^{1}H-^{13}C 相关二维谱主要解决各组^{1}H 和^{13}C 的归属。图 6-12 为^{1}H-^{1}H 化学位移相关二维谱。图 6-10 中横坐标、纵坐标均为^{1}H-NMR 谱，对角线相当于^{1}H-NMR 谱，出现一系列交叉峰，交叉峰的光谱含意是两组质子有偶合关系，因而可将各组具有偶合关系的质子连接起来。图 6-10 中有 ab，ag，bc，bl，cl，cm，co，gn，hi，hj，hk，ik，in，ji，jk，ln，lo，lm（实验误差漏 nk)。因而可排列出 spathulenol 结构中具有如图 6-13 所示片段。

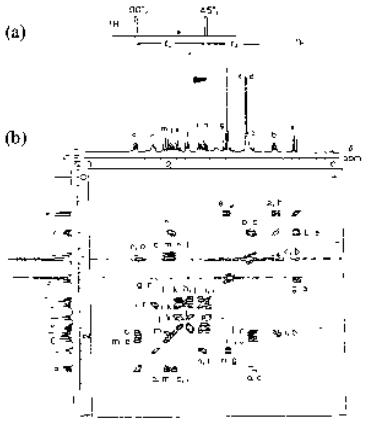


图 6-12 spathulenol ^{1}H-^{1}H 化学位移相关二维谱

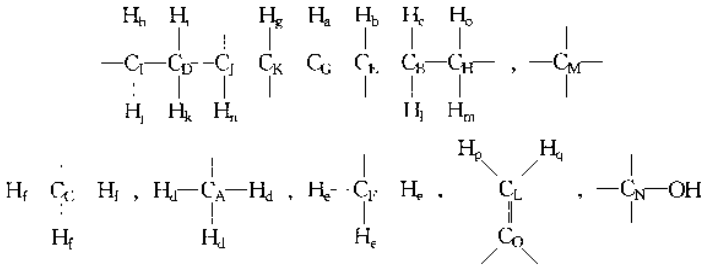


图 6-13

图 6-14 为远程偶合^{1}H-^{1}H 相关二维谱。图 6-14 中横坐标、纵坐标均为^{1}H-NMR 谱，交叉峰表示此两质子有长程偶合，^{1}H-^{1}H 长程偶合相关谱一般可检测出裂分常数为 1Hz 的长程偶合关系。图 6-14 中出现的长程偶合关系有 ae，be，co，gj，mp，nq 和 hf，^{1}H-^{1}H。

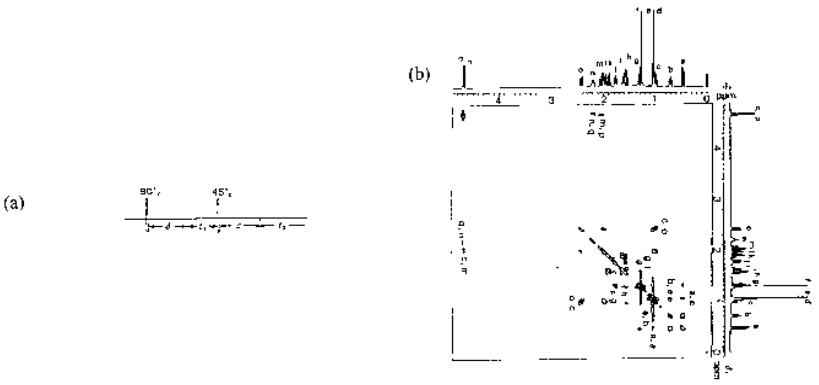


图 6-14 spathulenol ^{1}H-^{1}H 远程偶合相关二维谱

长程偶合相关谱主要用于解析季碳的连接方式及环的连接。从上述的结构片段中 pm，qn 有长程偶合关系，因此 Co 原子应于 C_J 和 C_H 原子间插入，hf 的交叉表示有一个季碳应于 C_C 和 C_I 间插入，ae，be 的交叉峰表示一个季碳于 C_G、C_E 与 C_F 间插入并构成一个三元环。G_J 的交叉峰表示一个季碳于 C_I，C_K 间插入，因此它们间的相互关系如**449** 所示。其余的问题是另有一个 OH 和甲基的连接问题，换句话说 spathulenol 的平面结构有**450** 和 **451** 两种可能。

spathulenol 的立体结构主要通过 NOE 相关谱和 NOE 差谱来解决。NOE 相关二维谱为图 6-15，纵坐

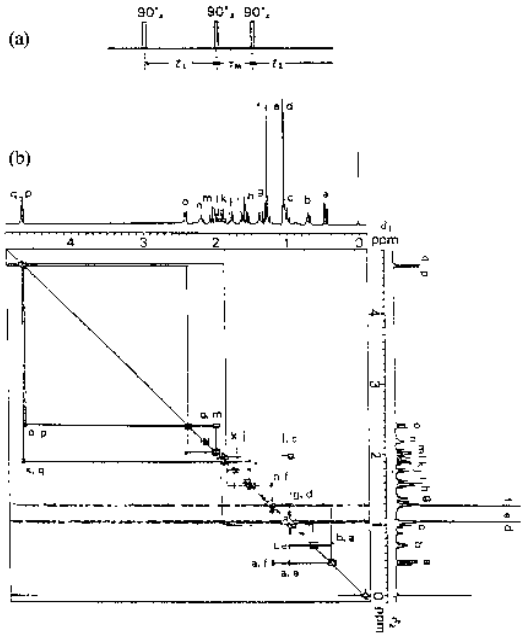


图 6-15　spathulenol NOE 相关谱

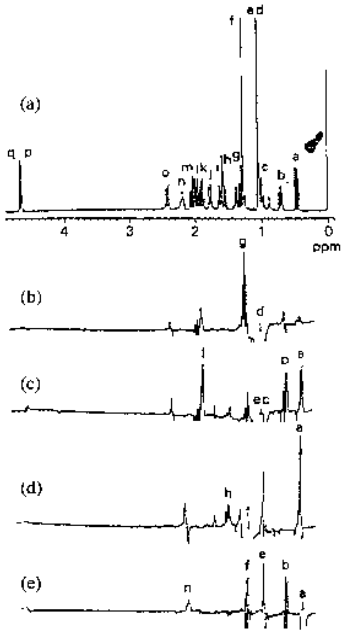
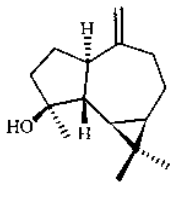
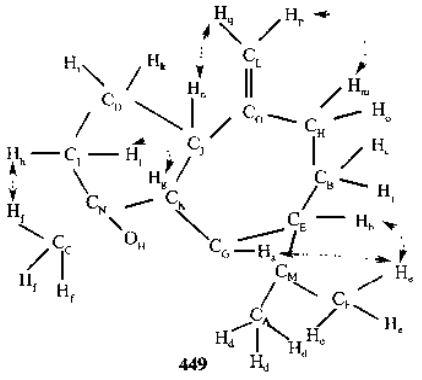


图 6-16　spathulenol NOE 差谱

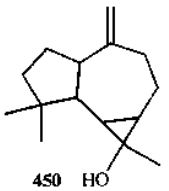
标、横坐标均为^{1}H-NMR 谱，一对质子间出现交叉峰表示两质子间有 NOE，即 ab，ae，af，be，dg，hf，hj，ik，jk，cl，om，kq，op 各对质子间有 NOE。图 6-16 为 NOE 差谱，表示 d 与 g 有 NOE，e 与 a，b，l，有 NOE，f 与 a，h 有 NOE，a 与 b，e，f，n 有 NOE。按这些核 Overhauser 效应推定 spathulenol 的立体结构式为**452**，同时也说明了 spathulenol 的平面结构式应为**451**。若按 **450** 式，则 d 间应有 NOE，与实测定不符，因此确定 spathulenol 的结构式为**448**[60]。



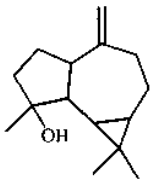
448



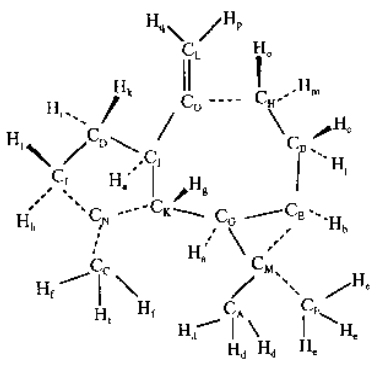
449



450

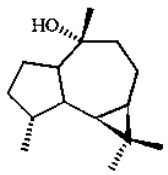


451



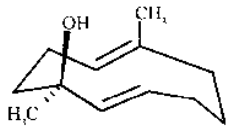
452

=



本工作是典型的用核磁共振二维谱推定结构的实例。由于 spathulenol 结构中仅有一个氧和三个季碳，而对结构较复杂的化合物困难就更大，有待进一步研究，使解析系统进一步完整。

稻垣等在解析 spathulenol 结构以后又成功地以此系统解析了 globulol (**453**)及另一未知成分 5*s*,8*s*-愈牛儿烷-1*E*,6*E*-二烯-5-醇(5*s*,8*s*-germacran-1*E*,6*E*-dion-5-ol,**454**)的结构[61]。



453

进入 20 世纪 90 年代以来，NMR 二维谱技术得到了极大的发展。应用的技术也名目繁多，有些技术性能近似。按我们的实践，在推定天然产物结构使用上最有使用价值的二维谱包括 ^{1}H 同核相关谱(^{1}H-^{1}H COSY)、^{1}H-^{13}C 异核相关谱(^{1}H-^{13}C COSY)、NOE 相关谱(NOESY)、^{1}H 探测异核多量子相干谱 HMQC(^{1}H-detected heteronuclear multiple-quantum coherence)和 ^{1}H-探测异核多键连接谱 HMBC(^{1}H-detected heteronuclear multiple-band conectivity)。HMQC 和 HMBC 谱的实例参见青蒿素的波谱解析部分。

下面介绍目前一般已知化合物的鉴定或新化合物的结构研究的思路和研究方法。

从一种植物中分离得到某化合物，首先是根据化合物的初步数据包括 TLC、R_f 值及显色试剂，HPLC 的保留时间结合 UV、IR、MS、H-NMR 的初步数据推定化合物的化学类型，再从该植物检索其同属植物的已知化学成分，有时往往可通过简单比较中鉴定已知化合物。根据化合物的高分辨质谱 HR-MS 确定分子式。从 UV 观察发色团。IR 确定主要官能团。按前述 ^{1}H-NMR 结合化学类型初步试解析化学结构。按 ^{1}H-NMR，^{1}H-^{1}H COSY(早期应用双照射)确定各组质子间的偶合关系。按 ^{13}C-NMR 及 DEPT 技术确定各组质子信号与 C 信号的相互连接关系，即 ^{1}H-^{13}C-键相关归属 ^{1}H-NMR 和 ^{13}C-NMR 的各组信号。通过 ^{1}H-^{13}C 长程偶合或 TOCSY，HOHAHA，近期主要用 HMBC 确定 ^{1}H 与 ^{13}C 原子二键相关或三键相关的连接关系。通过 2D INADEQUATE 以 C-C 邻近偶合相关关系，确定各组碳原子信号的连接。以 NOE 近期用 NOESY 以及 ^{1}H-NMR 各组质子的裂分常数，按两面角关系推定立体化学[48]。通过这样程序解析确定新化合物结构，其可靠程度很高，基本相当于 X 射线衍射的结果。

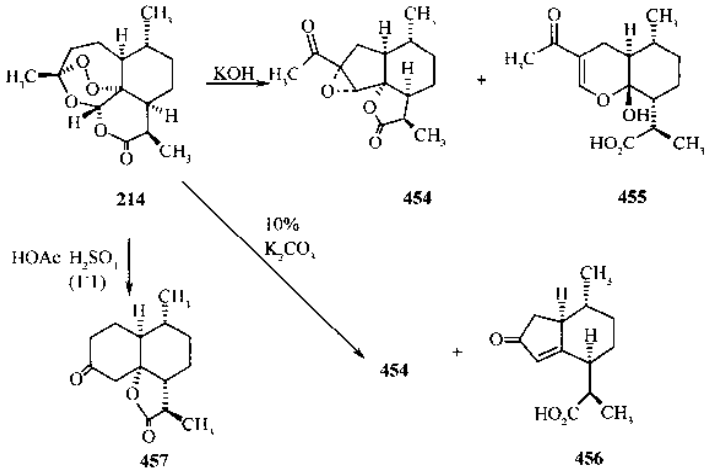
第八节 青蒿素的化学药理和临床

疟疾是危害人类的严重疾病之一。特别是热带地区的恶性疟(*Plasmodium falciparum*)，因是通过蚊虫叮咬传染，流行迅速。由于恶性疟病程发展快，疟原虫每日成数十倍增加，很容易因疟原虫堵塞大脑毛细血管而发展成为脑型疟，导致病人昏迷死亡。据统计，全球每年感染疟疾的人群约为 4 亿人。由于 20 世纪 60 年代抗氯喹虫株的出现，对多种喹啉类抗疟药均出现抗性，造成全世界每年因疟疾死亡的人数为 300 万～400 万人，近十年来有了大幅度的降低，虽然这与近年预防医学和环境卫生方面的发展密切相关，但也显示了新药开发的重大价值。青蒿素作为先导化合物的发现及其类似物的开发，无疑是中国科学家在疟疾治疗上的重大贡献，也是中国医药学的又一国际贡献。

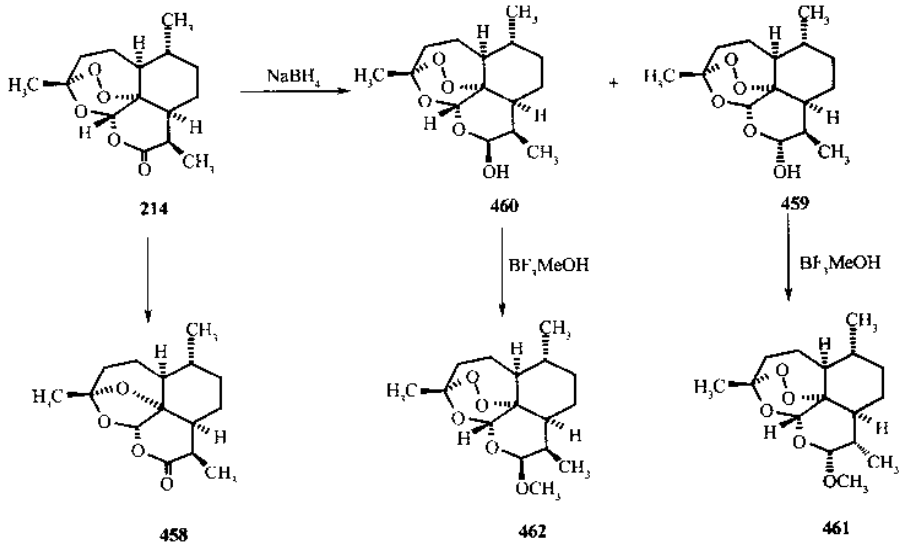
青蒿素是截疟古方青蒿鳖甲汤的主药，青蒿为菊科 Compositae 植物。一般药材青蒿用的为黄花蒿(*Artemisia annua*)和青蒿(*A. apiacea*)。20 世纪 60 年代在广泛筛选抗疟植物药的过程中，发现黄花蒿的乙醇提取物对鼠疟 *Plasmodium berghai* 具有快速杀灭疟原虫的作用，从中分离得到抗疟有效成分，为一种新倍半萜内酯，定名为青蒿素 artemisine、Qinghaosu。青蒿素按系统化学命名为 octahydro-3,6,9-trimethyl-(3α,5aα,6β,8aβ,9α,12β,12R)-(+)-3,12-epoxy-12-H-pyrano[4,3j]-1,2-benzodioxepin 10(3H)-one。为无色结晶，$[\alpha]_D^{20}+69°$(*c* 0.5,$CHCl_3$)，分子式 $C_{15}H_{22}O_5$。关于青蒿素的化学和药学性质 Ziffer[62]，Luo[63]等已有较全面的综述。

1. 青蒿素的化学性质

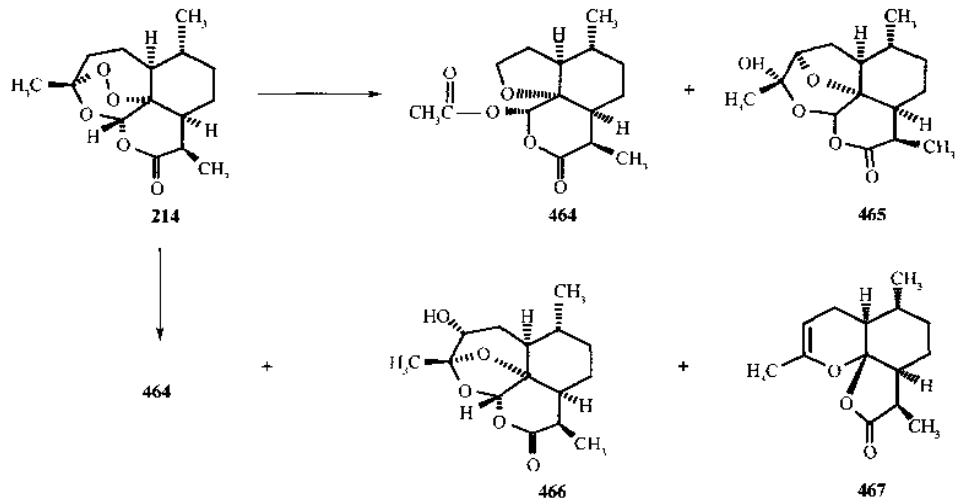
青蒿素极易被 $FeSO_4$ 还原，易与三苯磷反应，且质谱中有 m/z 250 即[M-32]$^+$。推测分子中有过氧基团。青蒿素化学性质比较稳定，但遇强碱很快溶解，于内酯环打开的同时发生重排和分解成**454** 和 **455**，若于 10% K_2CO_3 中室温放 1h 则生成**454** 和 **456**，于酸中(H_2SO_4:HOAc=1:1)室温放置 16h 则生成**457**。



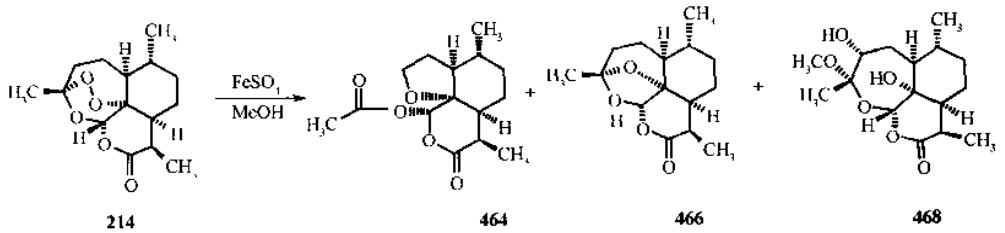
青蒿素以 Zn+HCl 还原或以 $Pd/CaCO_3$ 接触氢化主要收得去氧青蒿素(**458**)，若以 $NaBH_4$ 还原，则羰基还原成二氢青蒿素的 α (**459**)及 β(**460**)异构体的混合物，而不影响过氧键。二氢青蒿素若于甲醇溶液中以 BF_3 催化，则甲基化形成相应的蒿甲醚 α 体(**461**)和 β 体(**462**)，其中蒿甲醚 β 体容易结晶，易于溶液中析出。另外，青蒿素于甲醇溶液中以 $NaBH_4$ 还原时，反应完毕加 HCl 分解 $NaBH_4$，若加入过量的 HCl 放置，二氢青蒿素也能甲基化而转化成蒿甲醚，得率也同样很高，工业化生产主要用此法。蒿甲醚以 $Pd/CaCO_3$ 接触氢化则生成相应的去氧蒿甲醚(**463**)。



青蒿素(**214**)于二甲苯中 180～185℃ 回流 22h，反应产物 TLC 有 6～7 个斑点，层析分离其主要产物为 **464** 和 **465**，若直接加热至 190℃，10min 就分解成**466**、**467** 和 **464**[64]。



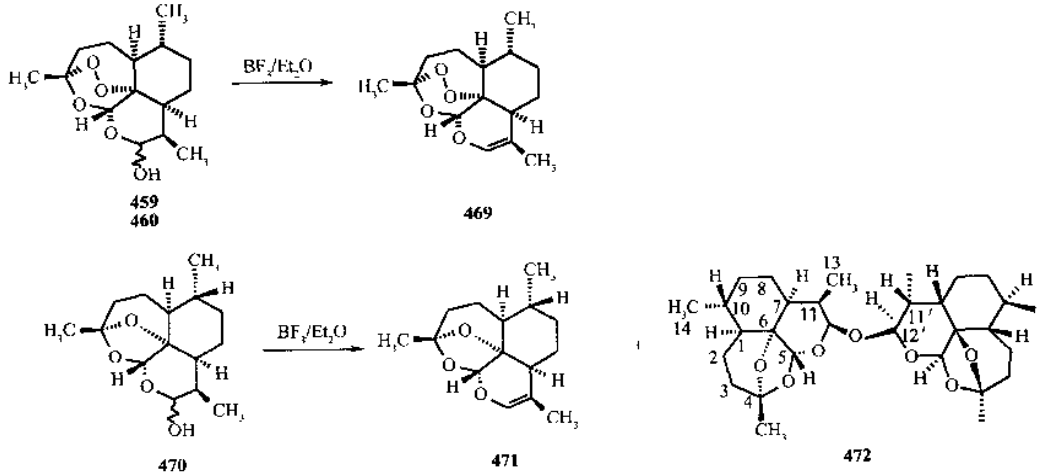
青蒿素于甲醇中以 $FeSO_4$ 还原，反应产物经层析得**464**、**466** 和 **468**。



青蒿素的亚铁离子还原反应受到一定的注意，主要青蒿素的 1,2,4-三氧六环的亚铁导致的还原反应，此过程和典型的生理代谢途径、血红蛋白代谢，包括亚铁血红素促进的活化、1,2,4-三氧六环代谢产物对疟原虫的选择性毒性，可能与青蒿素的抗疟作用有关[65]。

事实上，青蒿素的一些化学反应产物，如酸碱分解、热分解等，一般产物比较复杂，反应条件不同产物也不完全相同，而且很多产物并非结晶，过去分离和结构研究有一定困难，今后还值得进一步研究。

El-Feraly 等设想二氢青蒿素于 BF_3 中能反应生成两分子二氢青蒿素所成的二聚体，但实际上二氢青蒿素经 BF_3 催化脱水形成烯醇键型青蒿素衍生物**469**，而去氧青蒿素（**458**）经 $NaBH_4$ 还原后得**470**。于 BF_3 乙醚溶液中除收得相应的烯醇醚（**471**）（5%）外，可得去氧青蒿素的醚型二聚体**472**，**472** 由于没有过氧官能团，不具抗疟活性。**469** 若以 Zn + HCl 还原或接触氧化则收得相应的去氧产物**471**[65]。



2．青蒿素的波谱解析

青蒿素结构中仅有内酯基团而无其他发色团，紫外光谱 220nm 以上无吸收。红外光谱有 δ 内酯 1745cm^{-1}和过氧醚 831 cm^{-1}、881 cm^{-1}、1115 cm^{-1}吸收等。高分辨质谱分子离子峰 282.1472，分子式为 $C_{15}H_{22}O_5$。核磁共振谱于 $CDCl_3$ 中高场处有重叠，用 DMSO-d_6 做溶剂较佳。其^{1}H-NMR 有三个甲基峰各为 0.91d (J=6.4)1.06d (J=7.2)和 1.34s，各组质子归属(均经双照射和二维谱确定)见表，青蒿素衍生物**466**和 **468** 的^{1}H-NMR 各组质子归属与青蒿素比较如表 6-3 所示。

表 6-3　214、466 和 468 的^{1}H-NMR (400MHz)

质子	**214**(DMSO-d_6)	**466**(DMSO-d_6)	**468**($CDCl_3$)
H-1α	1.29m	1.28m	1.35ddd
H-2α	1.92ddd	2.05ddd	2.02ddd
2β	1.32m	1.42ddd	1.72ddd
H-3α	2.26ddd		
3β	2.04ddd	3.67brd	3.77brd
H-5β	6.11s	5.62s	5.44s
H-7α	1.78ddd	1.99ddd	1.84ddd
H-8α	1.71dddd	1.92dddd	1.84dddd
8β	1.14dddd	1.11dddd	1.10dddd
H-9α	1.00dddd	1.00dddd	0.95dddd
9β	1.63dddd	1.81dddd	1.84ddd
H-10β	1.51m	1.50m	1.64m
H-11α	3.15m	3.19m	3.36m
H-13CH_3	1.06d	1.19d	1.15d
H-14CH_3	0.91d	0.92d	1.00d
H-15CH_3	1.34s	1.56s	1.40s

J 值：1α,2β=2β,3α=13-14,2α,2β=3α,3β=14-15

1α,2α=2α,3α=2α,3β=4-5

1α,8β=8β,9α=9α,10β=13-14,8α,8β=9α,9β=14-15

1α,8α=8α,9α=8α,9β=9β,10β=4-5

7α,11α=6,11,13=12,14=6-8

青蒿素^{1}H-NMR 谱各组信号的化学位移和峰型见放大图谱，分子中 1α,2β,3α,7α,8β,9α,10β 均为直立键 2α,3β,8α,9β 均为平伏键，各组的两面角关系参见放大^{1}H-NMR 谱中所列。其中 1α,2β;2β,3α;7α,8β;8β,9α;9α,10β 夹角约为 180°，因此裂分常数为 13～14。1α,2α;2α,3α;2α,3β;7α,8α;8α,9β;9β,10β 夹角约为 45°，因此裂分常数为 4～5。2α,2β;3α,3β;8α,8β;9α,9β;各组同碳偶合裂分常数为 14～15。各组的峰型大部分比较典型。化合物**466** 和 **468** 的^{1}H-NMR 谱大体上与上述规律一致。峰型同样也比较典型。

青蒿素^{13}C-NMR 谱具有 15 个碳原子信号，DEPT 实验其中 3 个 s 峰，5 个 d 峰，4 个 t 峰，3 个 q 峰。按一般化学位移规律及 H-C 异核 COSY 确定归属如下：

C-1　49.468 d，　C-2　24.352 t，　C-3　35.468 t，　C-4　104.709 s，　C-5，　93.277 d，

C-6　79.564 s，　C-7　43.881 d，　C-8　22.414 t，　C-9　33.126 t，　C-10 36.076 d，

C-11 32.515 d，　C-12 171.493 s，C-13 12.404 q，　C-14 19.560 q，　C-15　24.927 q，

3．青蒿素的 HMBC 和 HMQC 谱

HMQC 谱和 HMBC 谱是近十年来发展并广泛应用于天然产物化学研究的核磁共振技术，根据化合物^{1}H-NMR 谱的归属可通过 HMQC 谱确定各组碳信号的归属，再通过氢谱观察其隔两个键三个键的碳原子。大大提高了推定天然产物结构正确性。

青蒿素的 HMQC 图和 HMBC 等图如图 6-9～图 6-25 所示，其相关关系归纳如表 6-4 所示。

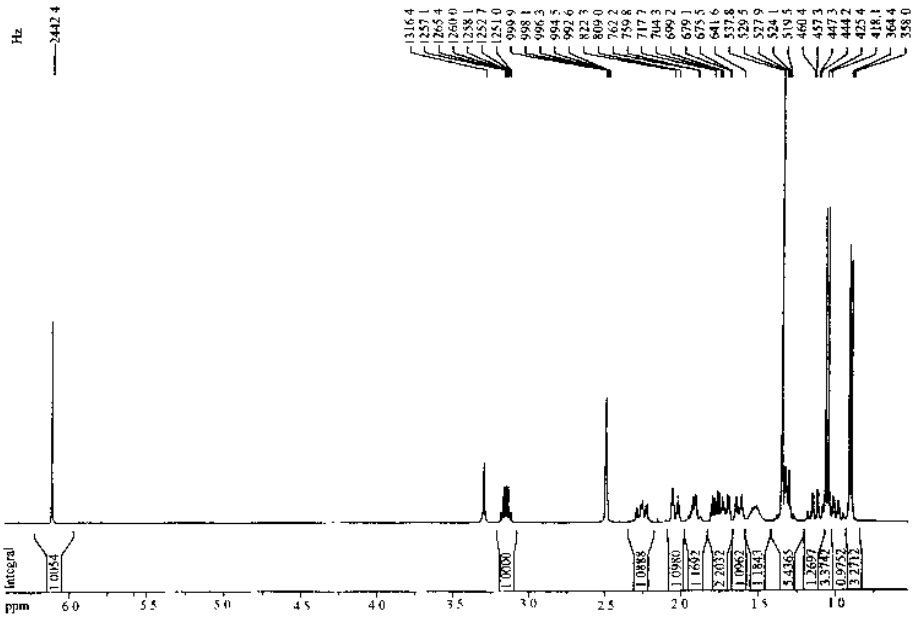


图 6-17 青蒿素^{1}H-NMR 图谱

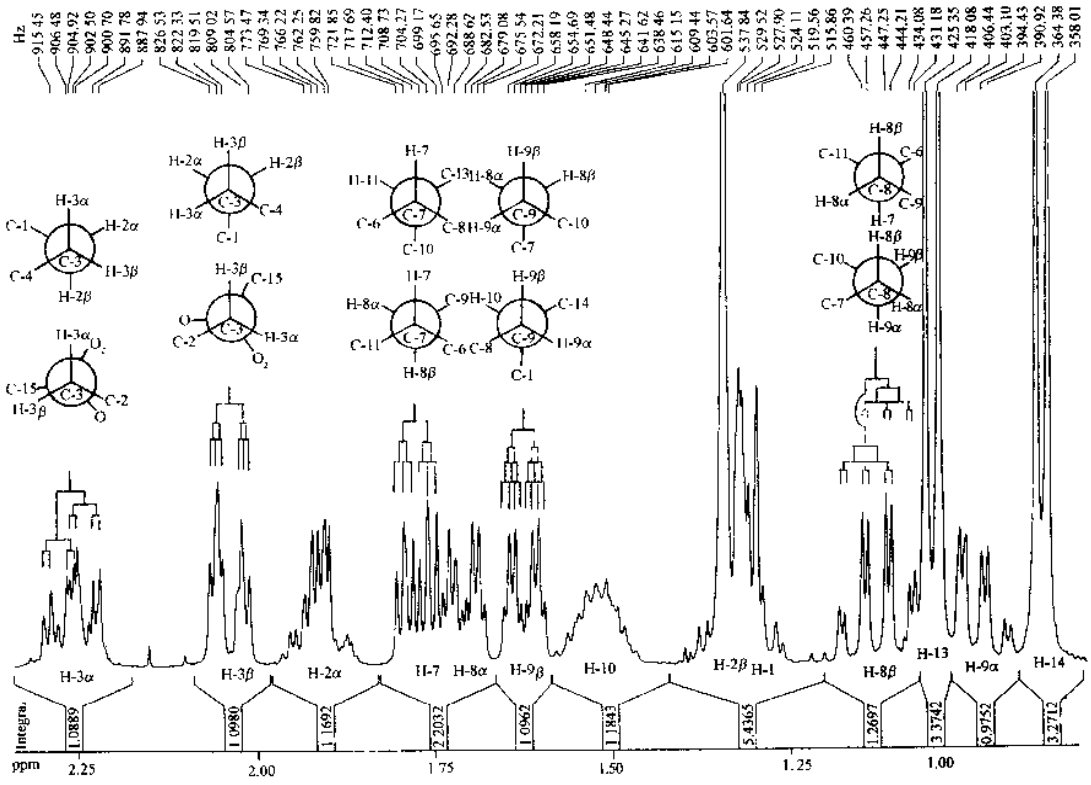


图 6-18 青蒿素^{1}H-NMR 谱放大图

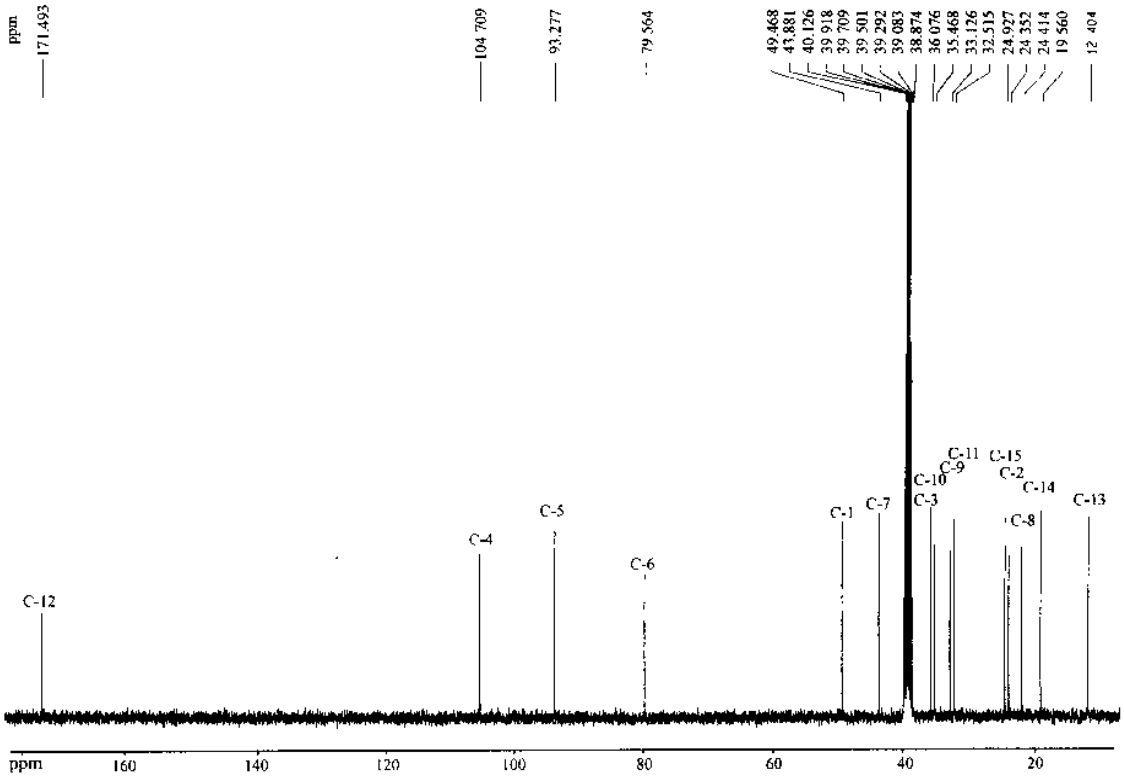


图 6-19　青蒿素^{13}C-NMR 图谱

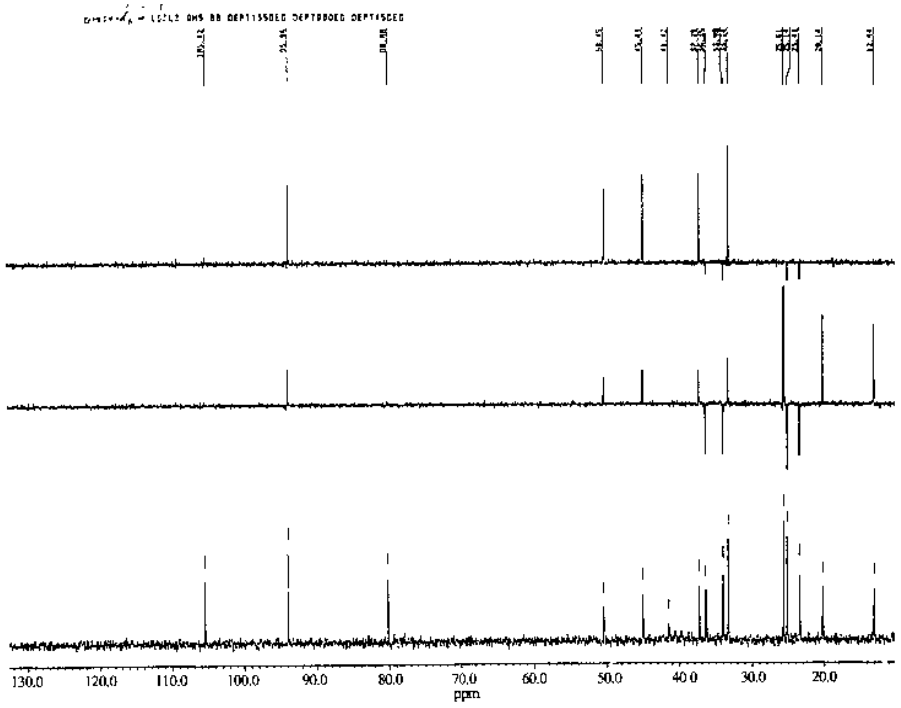


图 6-20　青蒿素^{13}C-NMR 谱 DEPT 图

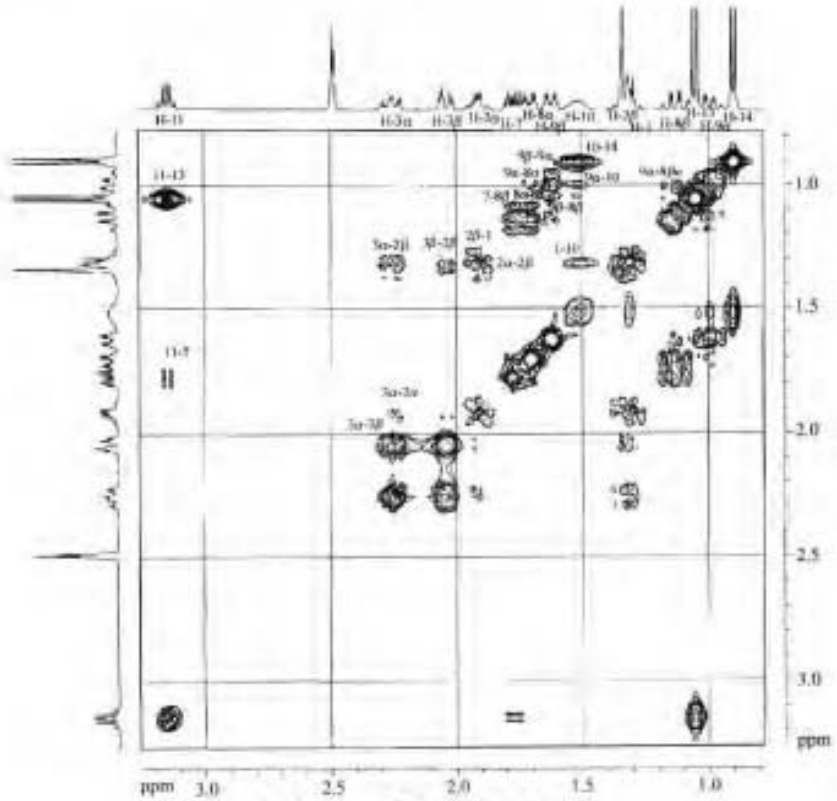


图 6-21 青蒿素^{1}H-^{1}H COSY 谱图

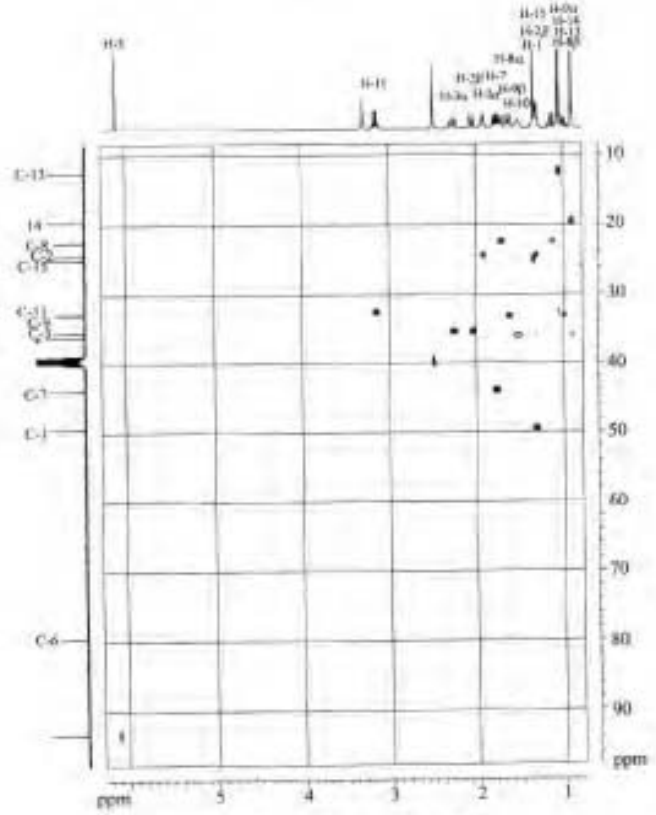


图 6-22 青蒿素 HMQC 谱图

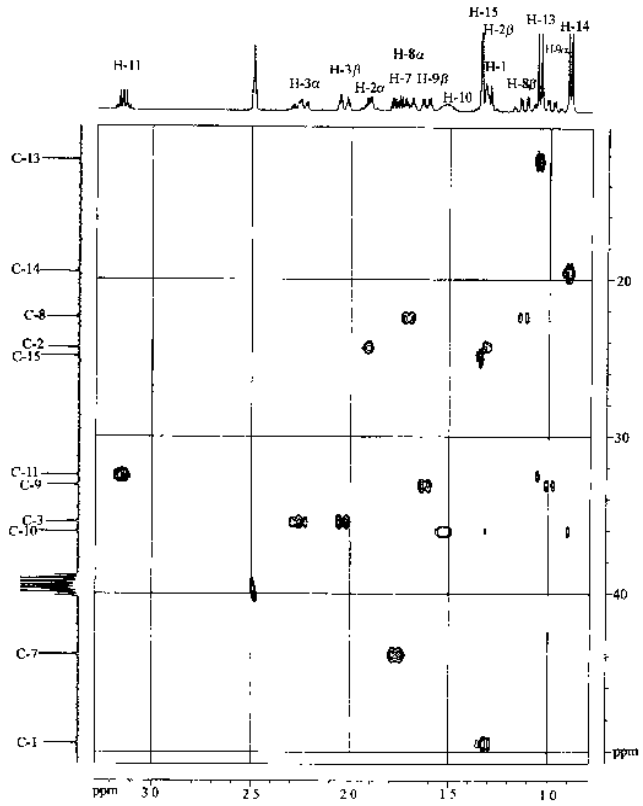


图 6-23　青蒿素 HMQC 谱放大图

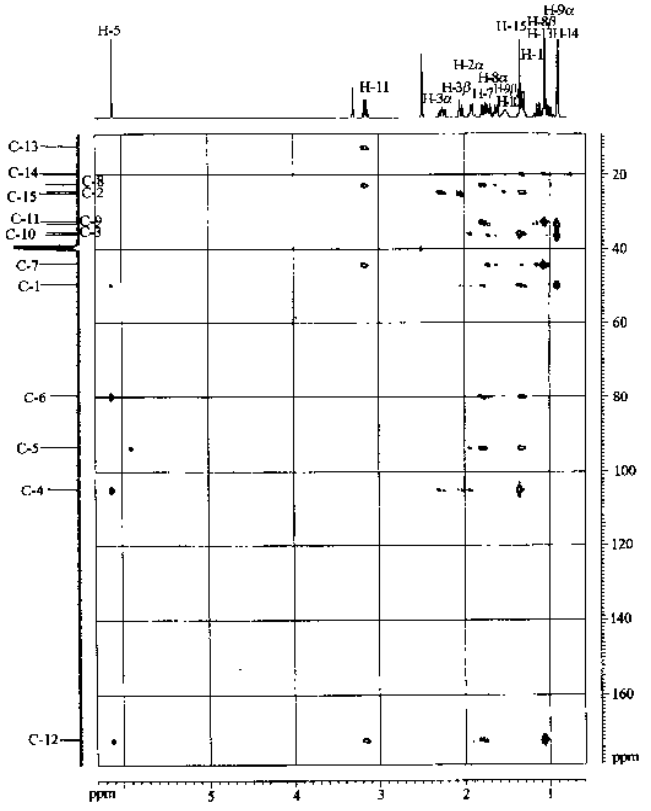


图 6-24　青蒿素 HMBC 谱图

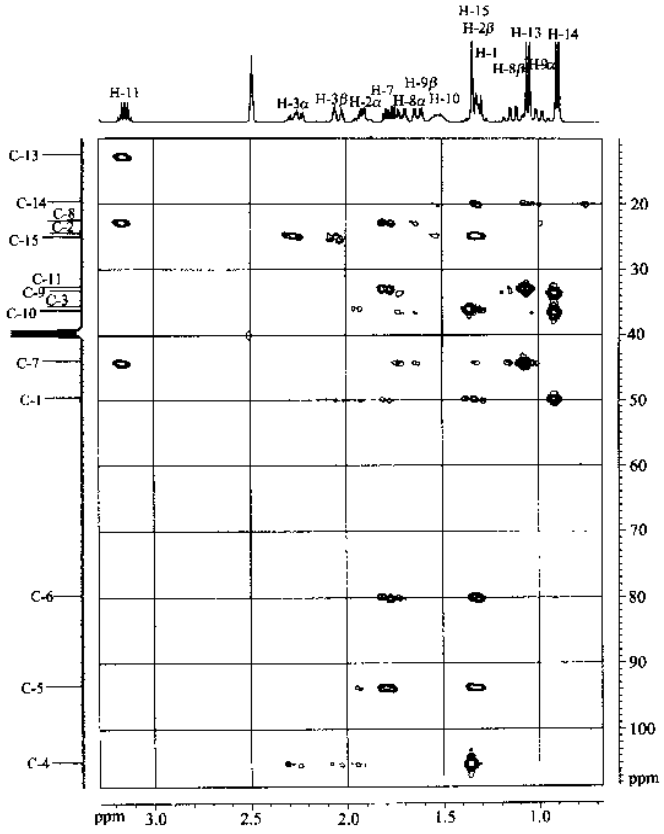


图 6-25 青蒿素 HMBC 谱放大图

表 6-4

质子化学位移及归属		HMQC 相关 C 信号及归属		HMBC 相关 C 信号
H-1α	1.29	C-1	49.486	C-14,C-7,C-6,C-5
H-2α	1.92	C-2	24.362	C-1,C-4
2β	1.32			C-3,C-4
H-3α	2.26	C-3	36.076	C-2,C-1
3β	2.04			C-2,C-4,C-1
		C-4	104.709	
H-5β	6.11	C-5	93.277	C-1,C-6,C-4,C-12
		C-6	79.584	
H-7α	1.78	C-7	43.881	C-8,C-9,C-1,C-6,C-5,C-12
H-8α	1.00	C-8	22.414	C-6
8β	1.63			C-7
		C-9	35.464	
H-10β	1.51	C-10	38.874	C-14,C-2
H-11α	3.15	C-11	33.126	C-13,C-8,C-7,C-12
		C-12	171.493	
H-13	1.06	C-13	12.404	C-11,C-7,C-12
H-14	0.91	C-14	19.560	C-9,C-10,C-1
H-15	1.34	C-15	32.515	C-3

4. 青蒿素及其衍生物的药理作用

青蒿素为一新类型的抗疟药，具有高效、速效、低毒的特点。体外实验于 20～50 μg/mg 对疟原虫有直接杀灭作用，对鼠疟(伯氏疟原虫)*P. berghai* 抗氯喹虫株 90% 抑制剂量 SD_{90} 为 6mg/kg，抗疟作用主要作用于红细胞内期，而对红细胞外期和前期均无效。其主要特点是由于结构类型和作用机制和一般抗疟药完全不同。因此对氯喹和甲氟喹(mefloquine)无交叉抗药性。对鼠疟抗氯喹虫株转阴剂量 ED_{50} 为正常株的 1/3，说明对抗氯喹虫株更比正常株敏感[66]。

青蒿素及各种青蒿素衍生物抗疟作用的报道，不同实验室采用筛选方法和虫株的差异，以及动物的差异，结果也有不同。不同的实验采用的疗效表达也不同，一般采用半数抑制率 IC_{50}，90% 抑制率 ED_{90} 或 SD_{90}，而 ID_{50} 或 ED_{90} 有的采用 ng/mg，也有把浓度除以相对分子质量而采用 nmol/L 或 10^{-9}mol/L 表示。构效关系的比较，常采用与青蒿素比较的相对抑制浓度，即青蒿素指数一般以青蒿素为 1，青蒿素指数代表比青蒿素强的倍数，也有实验室以青蒿素作为 100。二氢青蒿素的抗疟作用为青蒿素的 2～4 倍，蒿甲醚和蒿乙醚为青蒿素的 2～3 倍，蒿琥酯钠(二氢青蒿素琥珀酸酯钠)大体和二氢青蒿素相似[67～69]。

青蒿素类抗疟药的药代动力学，口服以 ^3H 标记的青蒿素，吸收迅速，0.5～1.0h 血液中即可达到最高浓度，随后逐渐下降，4h 降至峰值的一半，72h 后仅残留少量，体内主要分布于肝、肾、胆中浓度最高，给药后 24h 内，80% 以上经尿液和粪便排出，大鼠肌肉注射 ^3H-青蒿素，给药 30min 后，各器官吸收显著，以肝、脑、骨、血液中含量最高，其次为血，脾，肺、肾，16h 时血液中基本消失，按尿液中 ^3H 标记的青蒿素降解产物，2h 约排出 40%，24h 内排出 84%，48h 以后体内仅有 0.9%。

人口服青蒿素，部分由于不溶而未被肠胃道吸收，以原形从粪便中排出外，尿液以乙酸乙酯提取，提取物以薄层层析检查，并可分离得到化合物。尿中找不到青蒿素的原型，说明青蒿素代谢迅速，全部于体内代谢转化，代谢产物均不含过氧基团，服药 24h 后，尿液样品经薄层检查，已不再有青蒿素代谢产物的斑点，说明青蒿素全部代谢并排出体外。上述结果说明青蒿素吸收快、分布广、代谢快(半衰期短)能透过血脑屏障。另外，以细胞水平研究青蒿素的分布特性，发现疟原虫寄生的红细胞中青蒿素类药物的浓度远较非感染的红细胞为高，二者相差在 100 倍以上，这种分布特点即在靶细胞疟原虫中积累较高的浓度，决定了青蒿素类药物的特点是吸收快，快速杀灭疟原虫，有能透过血脑屏障，因此特别适用于抢救脑型疟和凶险型疟疾。

蒿甲醚狗肌肉注射 10mg，30mg/kg，4～9h 血液浓度达到最高，在体内滞留时间较长，蒿乙醚与之类似，血浆降解半衰期为 23.1h 为青蒿素衍生物中血液维持时间较长的，但由于青蒿素类药物代谢快，血液中维持时间较短，是造成青蒿素类药物复燃率高的主要原因[70～72]。

青蒿素类药物的毒性：青蒿素小鼠灌胃的半数致死量 LD_{50} 为 4223mg/kg 治疗指数为 47.1；青蒿素的灌胃，肌肉注射对猫、犬、大鼠、小鼠、豚鼠剂量为 100～1600mg/kg 相当于临床剂量的 70 倍，连续给药 3～7 天，一般观察包括状态、食欲、体重及心血管系统，肝肾功能，均未见异常变化；亚急性毒性试验，对大鼠和狗采用相当于临床剂量的 70 倍，连续给药 21 天。对脑电、心电、肝功能、血象，血蛋白总量、蛋白分类及食欲均无异常变化。

蒿甲醚。小鼠 LD_{50} 肌注为 465mg/kg，腹腔注射为 732mg/kg，皮下注射为 169mg/kg，亚急性毒性：狗肌注 7.2mg/(kg·d)、18mg/(kg·d)、36mg/(kg·d)，总剂量 194～972mg/kg。观察三个月常规检查及生化指标均无异常，高剂量组出现肝细胞轻度脂肪化，猴肌注 3.6mg/(kg·d)、10.8 mg/(kg·d)，总剂量 97～292 mg/kg，给药 1～3 个月，结果均无异常。

蒿琥酯钠。狗单次静脉注射观察 14 天，无毒副反应剂量最大量 70mg/kg，连续给药 14 天安全剂量为 11.25mg/kg。

青蒿素及其衍生物均无致癌、致畸和致突变的结果。

5. 青蒿素类药物的临床试验[66, 73]

1973～1979 年，我国科学工作者对青蒿素片剂、油剂、油混悬剂、水混总悬等几种剂型口服和注射，总剂量 0.9～1.2g，分三日给药，重症加倍，对 1265 例的总结，其中恶性疟 527 例，间日疟 738 例，临床治愈 1261 例，4 例恶性疟 72h 体温恢复正常，120h 疟原虫显著减少，但未转阴。退热及转阴时间均比氯喹对照组快，且

无明显毒副反应，但一个月复燃率较高。

蒿甲醚的临床治疗作用。1978～1980 年于海南、云南、广西、河南、湖北等地共验证了 1088 例，其中恶性疟 829 例，间日疟 259 例，首次剂量肌注 320mg 第二日、第三日各肌注 160mg，总剂量 640mg，治愈率 100%，平均退热时间 26.8h，平均转阴时间 36.3h，一个月随访，恶性疟复燃率 7.8%，间日疟复燃率 15%，也无任何毒副作用，其后临床采用四日疗法，首日肌注 160mg，以后每日 80mg×3，总剂量 400 mg，治疗 134 例，也均治愈。

蒿琥酯钠片 5 日疗法首日 200 mg，后四日每日 100 mg，总剂量 600mg 临床症状迅速控制，平均退热时间 19.9h，平均原虫转阴 56.9h，复燃率也高。

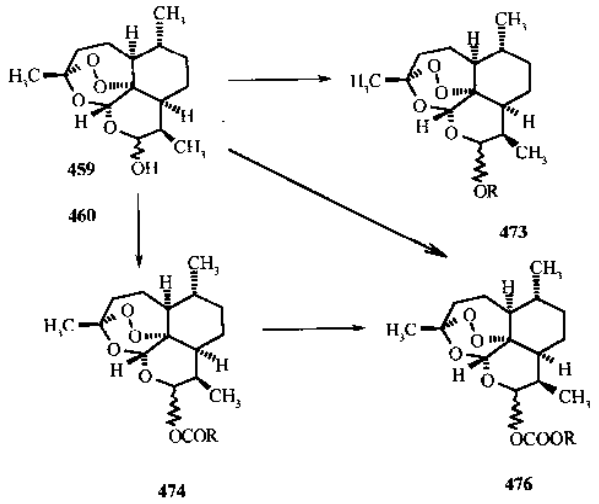
青蒿素及其类似物具有高效、速效、低毒，特别使用于抗氯喹和抗甲氟喹虫株的治疗和抢救脑型疟、凶险性疟疾，主要缺点为仅作用于疟原虫红血球内期，因此杀灭原虫不彻底，复燃率较高。临床一般采用于治疗后期加服乙胺嘧啶。伯喹等疟疾预防药及抗复发药，也有于治疗后加一个疗程伯喹或乙胺嘧啶处理。

6. 青蒿素的结构改造和构效关系

青蒿素由于在水中和油中的溶解度均较小，较难制成溶液状态的针剂，如制成混悬注射液，临床使用时常出现注射部位局部疼痛。另外，对脑型疟的抢救而言，病人常处于昏迷状态，一般说针剂给药较为理想，而且溶解度问题对口服型也足以影响吸收和生物利用，因此青蒿素作为先导进行结构改造，寻找疗效高，使用方便，无毒副作用的新药就显得非常重要。

青蒿素的结构中仅含过氧、内酯和缩醛官能团，各种化学反应往往首先影响过氧结构，失去过氧后抗疟作用也同时失去，因此从青蒿素直接进行结构改造往往比较困难。由于青蒿素以 $NaBH_4$ 还原不影响过氧，若将内酯羰基还原成羟基，所得的二氢青蒿素保留了抗疟活性，且比青蒿素强 4 倍，因此青蒿素的结构改造早期主要以二氢青蒿素开始。

由于青蒿素(**214**)于 $NaBH_4$ 还原过程中，12 位的羰基还原成羟基。可成 α (**459**)和 β(**460**)两种异构体。α 构型和 β 构型都有近似的抗疟作用，因此实际工作中常不分离 α，β 两种构型的纯品，而用二者的混合物继续反应。其结构改造主要用醇类 ROH 于乙醚溶液中以 BF_3 催化而形成一系列的二氢青蒿素醚类**473**，若将二氢青蒿素以酸酐 $(RCO)_2O$ 或酰氯 RCOCl 于吡啶或 Et_3N 或 DMAP 或用于酸类 RCOOH 加 DCC 于 DMAP 中酯化，均能收得二氢青蒿素酯类**474**，若采用二元酸所形成的酸酐酯化则可得 **475**。若以酰氯 ROCOCl 于吡啶中则能生成一系列二氢青蒿素碳酸酯类**476**。若以二元酸酸酐酰化则收的二元酸与两分子二氢青蒿素所形成的酯类**477**。中国科学院上海药物研究所制备了一系列二氢青蒿素、酯类和碳酸酯类衍生物，这些化合物对鼠疟抗氯喹虫株的抗疟作用见表 6-5[74]。



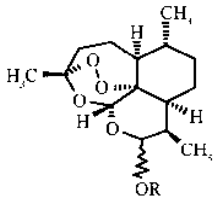
近代抗疟药活性的筛选，第一轮筛选往往考虑体外试验。美国 Walter Reed 陆军研究所和密西西比大学筛选采用两种恶性疟 *P. falaparum* 抗药性虫株，其一为 W-2 印支克隆；另一为 D-6 塞拉利昂克隆。前者

W-2 克隆为抗氯喹而对甲氟喹敏感，后者 D-6 克隆为抗甲氟喹而对氯喹敏感。筛选结果的表达用 IC_{50}或相对活性青蒿素指数。即以青蒿素本身为 1。青蒿素指数＝[IC_{50}(青蒿素对照组)/IC_{50}(衍生物)][MW(衍生物)/ MW(青蒿素)]。另外，Ziffer 等青蒿烯的结构改造中报道的青蒿素指数则为 IC_{50}(青蒿素对照组)/IC_{50}(衍生物)。完全用实际剂量表示。

表 6-5　青蒿素的抗疟作用

二氢青蒿素-12-醚类的抗疟作用

(*P. berghai* 抗氯奎虫株)

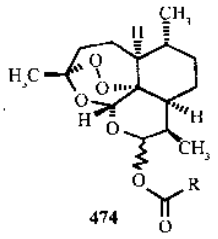


473

	R	SD_{90}/(mg/kg)		R	SD_{90}/(mg/kg)
473-1	CH_3	1.02	**473-14**	CH_2CH_2OH	无效
473-2	CH_3	1.16	**473-15**	CH_2CH_2OH	>41
473-3	C_2H_5	1.95	**473-16**	$CH_2CH_2OCH_3$	4.10
473-4	n-C_3H_7	1.70	**473-17**	$CH_2CH_2OCH_3$	2.28
473-5	i-C_3H_7	2.24	**473-18**	$CH_2C_6H_5$	3.42
473-6	n-C_4H_9	1.50 无效	**473-19**	$CH_2C_6H_5$	>2.5
473-7	i-C_5H_{11}	4.00	**473-20**	$CH_2C_6H_4$-p-OCH_3	10.04
473-8	$C(CH_3)_2CH_2CH_3$	4.41	**473-21**	CH_2CF_3	18.7
473-9	$(CH_2)_7CH_3$	>20	**473-22**	CH_2CH_2Cl	2.24
473-10	cyclopentyl	4.30	**473-23**	CH_2CH_2Br	1.74
473-11	cyclohexyl	>24	**473-24**	$CH_2C_6H_4$-m-F	8.81
473-12	cyclohexyl	1.39	**473-25**	$CH_2C_6H_4$-m-F	10.00
473-13	$CH_2CH{=}CH_2$	1.39			

二氢青蒿素-12-酯类的抗疟作用

(*P. berghai* 抗氯奎虫株)



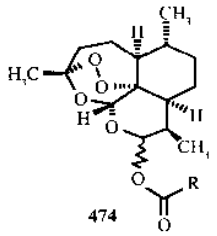
474

	R	SD_{90}/(mg/kg)		R	SD_{90}/(mg/kg)
474-1	CH_3	1.20	**474-7**	C_2H_5	0.67
474-2	n-C_3H_7	0.66	**474-8**	$C_{11}H_{23}$	>20
474-3	i-C_3H_7	0.65	**474-9**	$CH{=}CH_2$	0.46
474-4	n-C_4H_9	0.50	**474-10**	$CH{=}CHCH_3$	0.51
474-5	i-C_4H_9	0.51	**474-11**	$CH_2OC_2H_5$	2.1
474-6	n-C_5H_{11}	0.48	**474-12**	cyclohexyl	0.69

续表

二氢青蒿素-12-酯类的抗疟作用

（*P. berghai* 抗氯奎虫株）

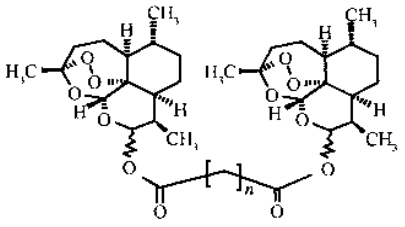


474

	R	SD_{90}/(mg/kg)		R	SD_{90}/(mg/kg)
474-13	C_6H_5	0.48	**474-29**	—CH═CH-furanyl-(1)	0.88
474-14	C_6H_4-*m*-CH_3	2.43	**474-30**	C_6H_4-*o*-F	0.63
474-15	C_6H_4-*p*-CH_3	1.73	**474-31**	C_6H_4O-*m*-F	0.80
474-16	$CH_2C_6H_5$	0.95	**474-32**	C_6H_4-*p*-F	
474-17	$CH{=}CHC_6H_5$	0.74	**474-33**	C_6H_4-*m*-CF_3	0.57
474-18	C_6H_4-*p*-OCH_3	0.67	**474-34**	C_6H_4-*o* Cl	1.17
474-19	C_6H_5-*p*,*m*-*di*OCH_3	0.54	**474-35**	C_6H_4-*m*-Cl	1.12
474-20	C_6H_3-*p*,*m*,*m*-*tri*OCH_3	0.65	**474-36**	C_6H_4-*p*-Cl	1.20
474-21	C_6H_4-*p*-OCH_3	1.05	**474-37**	C_6H_4-*p*-CCl_3	4.14
474-22	naphthyl-(1)	4.1	**474-38**	C_6H_4-*o*-Br	3.10
474-23	C_6H_4-*p*-C_6H_5	4.4	**474-39**	C_6H_4-*m*-Br	1.50
474-24	$CH(C_6H_5)_2$	16.7	**474-40**	C_6H_4-*p*-Br	2.97
474-25	CH_2-naphthyl-(1)	1.37	**474-41**	$CH_2OC_6H_4$-*p*-Cl	0.62
474-26	CH_2O—C_6H_4-*p*-C_6H_5	0.65	**474-42**	$CH_2OC_6H_3$-*op*-*di*Cl	1.94
474-27	furanyl-(1)	0.69	**474-43**	C_6H_4-*p*-C_6H_4-*p*-Cl	10 抑制率 49%
474-28	benzofuranyl-(1)	0.69	**474-44**	C_6H_4-*p*-C_6H_4-*p*-Br	10 抑制率 65%

二元酸双二氢青蒿素-12-酯类的抗疟作用

（*P. berghai* 抗氯奎虫株）



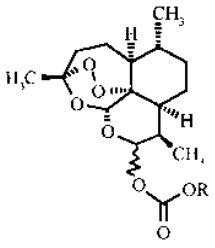
477

	n	SD_{90}/(mg/kg)		*n*	SD_{90}/(mg/kg)
青蒿素		6.20	**477-4**	$(CH_2)_6$	1.20
477-1	$(CH_2)_2$	1.05	**477-5**	C_6H_4-*o*-二取代	7.20
477-2	$(CH_2)_3$	0.65	**474-6**	C_6H_4-*m*-二取代	13.60
477-3	$(CH_2)_5$	0.96			

续表

二氢青蒿素-12-碳酸酯类的抗疟作用

（*P. berghai* 抗氯拿虫株）

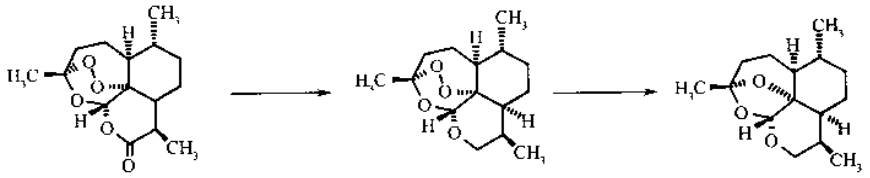


476

	R	SD_{90}/(mg/kg)		R	SD_{90}/(mg/kg)
476-1	CH_3	0.78	**476-6**	n-C_4H_9	0.60
476-2	C_2H_5	0.63	**476-7**	i-C_4H_9	0.64
476-3	n-C_3H_7	1.32	**476-8**	$CH_2C_6H_5$	0.67
476-4	n-C_3H_7	0.50	**476-9**	C_6H_5	0.63
476-5	i-C_3H_7	0.49			

7. 青蒿素及其几种衍生物的抗疟作用

Jung 等从青蒿素以 $NaBH_4$ 还原后以 $BF_3 \cdot Et_2O$ 催化制备了 C-12 去羰基氧青蒿素(**478**)，并再以 5%Pd/$CaCO_3$ 接触氢化制得去羰基氧青蒿素(**479**)，并比较了它们的活性，如图 6-26 所示。



214　　478　　479

图 6-26

对上述中国最早制备的抗疟有效药物，以 W-2 印支克隆和 D-6 塞拉利昂克隆筛选，相对抗疟活性(青蒿素指数)如表 6-6 所示。

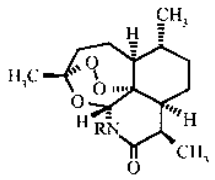
表 6-6

	W-2	D-6		W-2	D-6
青蒿素 **214**	1.00	1.00	二氢青蒿素(α,β混合物)	3.58	5.75
α-蒿甲醚 **473-1**	1.92	2.34	α-蒿乙醚 **473-3**	2.08	2.52
β-蒿乙醚 **473-3**	2.18	2.58	蒿琥酯钠 **475**	3.86	4.83

Posner 等从环己烷开始合成了三种 1,2,4-三氧六环 trioxane **480-1**、**480-2** 和 **480-3**[75]，经筛选，**480-1** 青蒿素指数 W-2 和 D-6 均为 2.0，而**480-2** 和 **480-3** 均在 0.02 以下，说明青蒿素的抗疟作用并不是单纯的过氧结构，需要其他基团的影响。

Avery 等把青蒿素的内酯结构改造成内酰胺类型，以观察其抗疟作用，合成了 13 个化合物[76]，其抗疟相对活性(青蒿素指数)如表 6-7 所示。

表 6-7



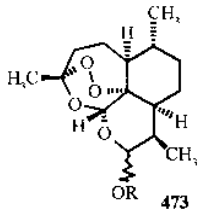
481

	R	W-2	D-6		R	W-2	D-6
481-1	CH_3	4.00	2.13	**481-7**	CH_2COOH	—	0.06
481-2	n-C_3H_7	1.11	0.75	**481-8**	CH_2CH_2COOH	0.02	0.12
481-3	i-C_4H_9	1.05	1.45	**481-9**	$CH_2C_6H_5$	2.17	1.89
		(2.27)[1)]	(1.55)[1)]			(2.52)[1)]	(1.46)[1)]
481-4	n-C_5H_{11}	0.63	1.10	**481-10**	$CH_2C_5H_4$-p-Cl	0.09	1.11
						(3.11)[1)]	(1.28)[1)]
481-5	i-C_5H_{11}	0.94	1.49	**481-11**	$CH_2CH_2C_6H_5$	1.43	1.97
						(2.04)[1)]	(1.87)[1)]
481-6	$CH_2CH_2N(CH_3)_2$	—	0.37	**481-12**	$(CH_2)_3C_6H_5$	1.05	2.05
						(2.81)[1)]	(1.47)[1)]

1)为密西西比大学的筛选数据。

Lin 等以 OH 基酸类与二氢青蒿素缩合成醚,再水解成酸以制备一系列水溶性青蒿素类似物[77, 78],它们的抗疟相对活性(青蒿素指数)如表 6-8 所示。

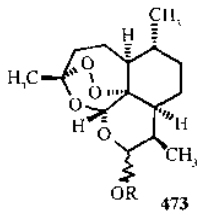
表 6-8



473

	R	D-6	W-2
473-26	$CH_2COOC_2H_5$	4.9	2.5
473-27	CH_2COOK	0.05	0.03
473-28	$(CH_2)_2COOC_2H_5$	1.6	1.0
473-29	$(CH_2)_2COOK$	0.03	0.03
473-30	$(CH_2)_3COOC_2H_5$	0.96	0.7
473-31	$(CH_2)_3COOK$	0.04	0.06
473-32	$CH_2C_6H_4$-p-$COOC_2H_5$	3.8	1.8
473-33	$CH_2C_6H_4$-p-$COOK$	1.7	0.7
473-34	(R)-$CH_2CH(CH_3)COOCH_3$	1.1	0.46
473-35	(R)-$CH_2CH(CH_3)COOK$	0.10	0.049
473-36	(S)-$CH_2CH(CH_3)COOCH_3$	6.0	1.73
473-37	(S)-$CH_2CH(CH_3)COOK$	0.07	0.31
473-38	(R)-$CH(CH_3)CH_2COOCH_3$	4.9	0.37
473-39	(R)-$CH(CH_3)CH_2COOK$	0.06	0.59
473-40	(S)-$CH(CH_3)CH_2COOCH_3$	1.1	5.4
473-41	(S)-$CH(CH_3)CH_2COOK$	0.14	0.35

续表

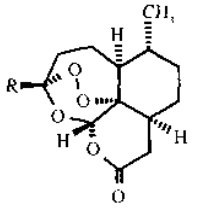


473

	R	D-6	W-2
473-42	(*R*)-CH(C_3H_7)$CH_2C_6H_5$	0.53	0.75
473-43	(*S*)-CH(C_3H_7)$CH_2C_6H_5$	1.45	2.37
473-44	(*R*)-CH(C_6H_5)$COOC_2H_5$	10.8	8.0
473-45	(*S*)-CH(C_6H_5)$COOC_2H_5$	4.48	4.52
473-46	(*R*)-CH(CH_3)C_6H_4-*p*-CF_3	1.13	0.63
473-47	(*S*)-CH(CH_3)C_6H_4-*p*-CF_3	7.0	4.0
473-48	(*R*)-CH($CH_2COOC_2H_5$)C_6H_5	4.73	4.64
473-49	(*S*)-CH($CH_2COOC_2H_5$)C_6H_5	20.7	9.3
473-50	(*R*)-CH($CH_2COOC_2H_5$)C_6H_4-*p*-NO_2	4.40	4.09
473-51	(*S*)-$CH_3CH_2COOC_2H_5C_6H_4$-*p*-NO_2	3.0	3.3
473-52	(*R*)-CH(CH_3)C_6H_4-*p*-$COOCH_3$	3.00	2.50
473-53	(*S*)-CH(CH_3)C_6H_4-*p*-$COOCH_3$	0.82	0.78
473-54	(*R*)-CH(CH_3)C_6H_4-*p*-COOH	0.40	0.40
473-55	(*S*)-CH(CH_2COOH)C_6H_4-*p*-NO_2	0.75	0.81

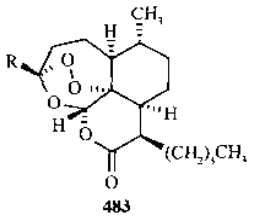
Avery 等设计把青蒿素的 4 位甲基和 11 位甲基修饰为烷基或芳香烷基以观察抗疟作用[79]，合成了下列 14 个化合物，它们的抗疟相对活性(青蒿素指数)如表 6-9 所示。

表 6-9



482

	R	D-6	W-2		R	D-6	W-2
482-1	CH_3	0.88	1.12	**482-5**	$CH_2COOC_2H_5$	2.32	2.32
482-2	C_2H_5	21.2	6.73	**482-6**	$CH_2C_6H_5$	0.03	0.01
482-3	*n*-C_3H_7	0.20	0.18	**482-7**	$(CH_2)_2C_6H_4$-*p*-Cl	1.14	1.27
482-4	*i*-C_3H_7	0.53	0.45	**482-8**	$(CH_2)_3C_6H_5$	2.20	2.18

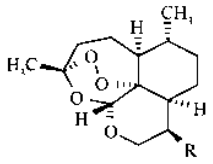


483

	R	D-6	W-2		R	D-6	W-2
483-1	CH_3	1.84	2.57	**483-4**	$(CH_2)_2C_6H_4$-*p*-Cl	0.43	0.53
483-2	*n*-C_4H_7	0.28	0.33	**483-5**	$(CH_2)_2C_6H_5$	0.39	0.48
483-3	$CH_2C_6H_5$	0.01	0.01	**483-6**	$CH_2(C_2H_5)_2$	13.82	22.84

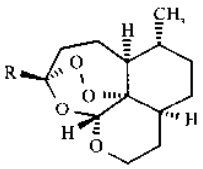
鉴于上述结果，青蒿素的 C-4、C-11 烷基取代衍生物中，**482-2** 和 **483-6** 的抗疟活性比青蒿素高出 10～20 倍，为此 Avery 等合成了 C-12 位去碳基 C-4、C-11 烷基取代物，以希望发现抗疟活性更强的化合物，制备了 484 类型化合物 17 种[80]，并进行了定量构效关系 QSAR 分析，它们的相对抗疟活性如表 6-10 所示。

表 6-10



484

	R	D-6	W-2		R	D-6	W-2
484-1	CH_3	6.59	5.67	**484-5**	n-C_4H_9	58.26	20.90
484-2	H	2.37	1.90	**484-6**	n-C_5H_{11}	1.70	1.45
484-3	C_2H_5	9.14	4.66	**484-7**	$(CH_2)_3C_6H_5$	50.73	25.06
484-4	n-C_3H_7	4.73	5.50	**484-8**	$(CH_2)_3C_6H_4$-p-Cl	69.90	33.17

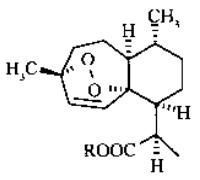


485

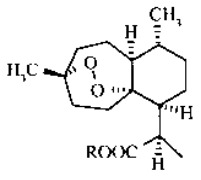
	R	D-6	W-2		R	D-6	W-2
485-1	C_2H_5	0.10	0.10	**485-6**	$(CH_2)_2C_6H_5$	0.06	0.02
485-2	n-C_3H_7	7.22	6.85	**485-7**	$(CH_2)_3C_6H_4$-p-Cl	0.13	0.28
485-3	n-C_4H_9	6.53	5.56	**485-8**	$(CH_2)_2COOC_2H_5$	4.22	5.06
485-4	i-C_4H_9	1.83	2.50	**485-9**	$(CH_2)_3COOH$	0.0009	
485-5	$(CH_2)_4C_6H_5$	3.36	3.80				

在这些 C-4、C-11 烷基取代的 C-12 去碳青蒿素衍生物中**484-5**、**484-7**、**484-8** 的体外抗疟作用强度为青蒿素的 25～70 倍，为迄今报道抗疟作用最强的几种类似物。

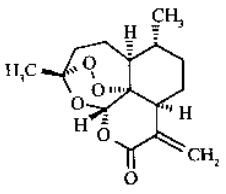
此外，Avery 等并合成了三环系统的青蒿素类似物 **486a** 和 **486b**，其中 R 基团各别为 H、CH_3、$CH_2C_6H_5$[81]，此 6 种化合物抗疟活性均在青蒿素的百分之一以下，进一步说明单纯过氧结构并不对疟原虫构成抑制作用。



486a



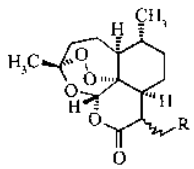
486b



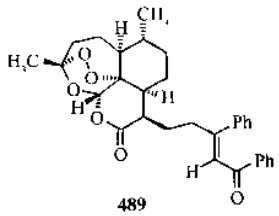
487

青蒿素的另一结构改造路线是通过天然存在少量的青蒿烯(artemisitene，**487**)，此青蒿烯也可从青蒿素直接转化成，青蒿烯的 α,β-不饱和内酯双键比较活泼，可在酸催化下通过 Michael 加成，形成一系列 C-11 位青蒿素衍生物[82]，它们的相对抗疟活性(青蒿素指数)如表 6-11 所示。

表 6-11

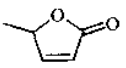


488



489

a. R=H　　b. R=CN　　c. R=$CH_2CH{=}CH_2$

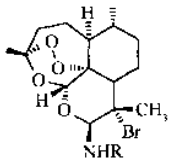
d. R=CH_2CO-*t*-Bu　　e. R= 2′-cyclopentanone　　f. R= 

	W-2	D-6		W-2	D-6
488b	0.36	0.17	**488f**	0.03	0.058
488c	2.9	2.3	**488f**	0.037	4.5
488d	0.13	7.4	**488e**	0.29	0.47
488d	0.74	4.5	**489**	0.55	6.2

Actone 等从青蒿烯(**487**)开始对其 C-11、C-13 双键的一系列反应产物，如 CH_2N_2 加成，氧化成epooxy，再从 epooxy 以 H_2O、HBr 把环打开，但这些产物的抗疟活性低于青蒿素[83]。

Lin 等从二氢青蒿素经脱水而成烯醇醚型化合物**469**[84]，制备了五种杂环水溶性化合物**490**，此类 11 位 Br 代青蒿素芳香胺类的相对抗疟活性(青蒿素指数) 如表 6-12 所示。

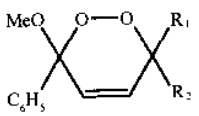
表 6-12



490

	R	D-6	W-2		R	D-6	W-2
490-1	-thiazole	0.62	2.9	**490-4**	-pyridine-2	0.07	0.51
490-2	—C_6H_4-*m*-F	3.5	W-2 >3.8	**490-5**	-pyrimidine	0.02	0.11
490-3	—C_6H_4-*p*-F	0.16	1.0				

青蒿素作为一种新类型抗疟药的发现，必然会联想到广泛筛选天然和合成过氧化合物的抗疟活性，加上活泼的过氧化合物进入体内所产生的生理作用。Posner 等合成了二十多个**491** 类型化合物，R 基团各为环戊基、环己基和环庚基，它们的 IC_{50}(nmol/L)作用仅为青蒿素的 1/4～1/10。一些扭曲环化合物如 ascaridol、dihydroascaridol 类似物，其抗疟作用也远比青蒿素低，但青蒿素的发现，对天然过氧化合物的研究无疑是极大的促进。

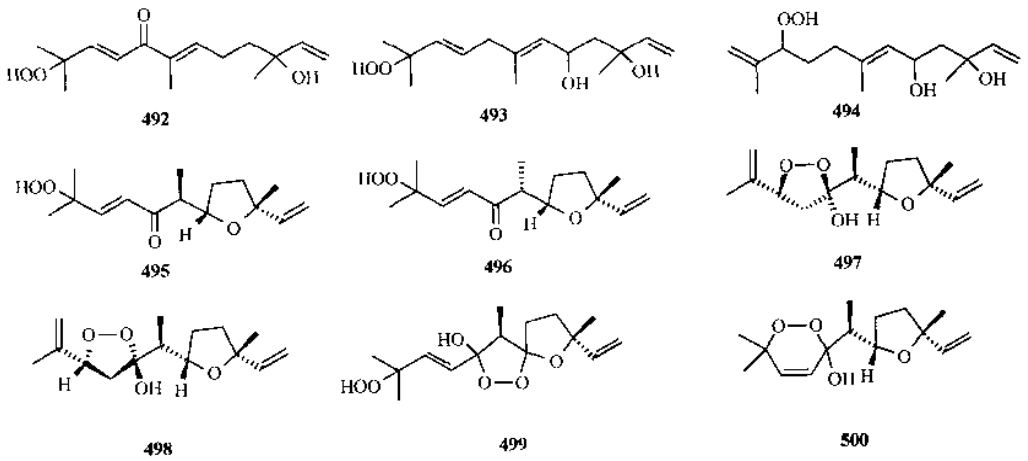


491

第九节 天然倍半萜过氧化合物

由于天然过氧化合物青蒿素抗疟作用的发现，作为新类型抗疟药的开发成功，极大地促进了从植物和海洋生物中寻找新的过氧化合物。一般天然界的过氧化合物主要有两大类：一类为过氧羟基化合物；另一类为环状过氧醚型化合物。前者化学性质相对不稳定，后者有时相当稳定。由于羟基或双键在一定条件下都有可能被氧化，因此过氧羟基化合物存在比较普遍。由于过氧化合物本身也是一种氧化剂。由于氧分子本身是两个氧原子以双键结合 O═O。因此很容易与共轭双键以 Diels-Alder 反应而形成环状过氧化合物。因而很多情况下，过氧羟基化合物和环状过氧化合物存在于同种或同属植物中。

从青蒿属植物中曾分离得到一些青蒿素以外的过氧化合物。例如，从 *Artemisia douglasiana* 中分离得到 nerolidol 的过氧化物**492**[85]。另外，类似化合物**493** 和 **494** 发现存在于 *A. alla* 中。这些 nerlidol 形成的过氧化合物有些植物中含量可达 2%。从 *A. abrotannum* 中分离得到 arteincultone (**495**)、epiarteincultone (**496**)及 **497～500**[86]，而化合物**497～500**，结构比较奇特。特别是化合物**499**，具有丙烯过氧羟基及螺环过氧螺环缩酮。生理作用尚未见报道。arteincultone (**495**)对恶性疟原虫 *P. faleiparum* 具有中等程度的抗疟活性。

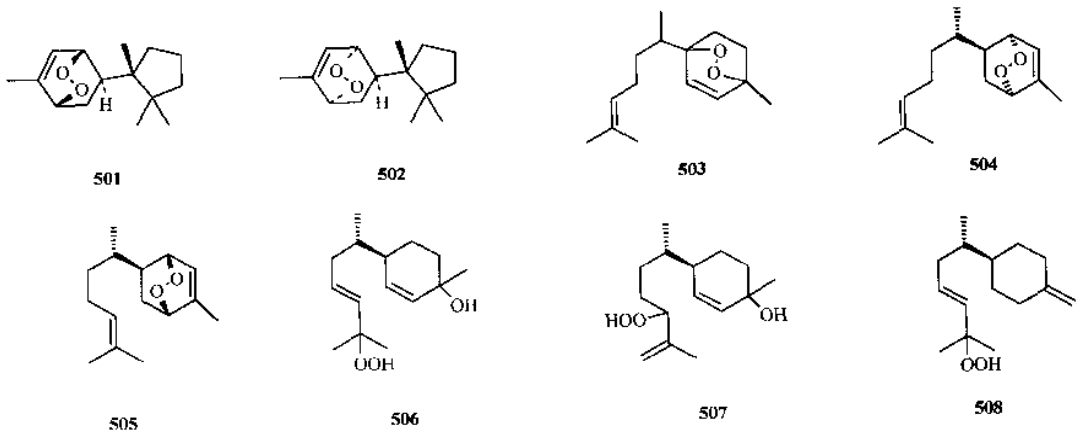


492 **493** **494**

495 **496** **497**

498 **499** **500**

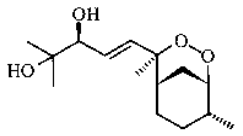
从叶苔科叶苔属植物 *Jungermannia infusca* 中分离得到两种花侧柏烷 cuparane 型倍半萜过氧化物**501** 和 **502**。没药烷 bisabolane 型过氧化合物存在于 *Eupatorium*、*Senceio*、*Ligularia* 等属植物中。*t*-curcumene **503** 体外试验具有抗疟作用，但体内无效。从良姜属 *Alpinina densibracteata* 植物中分离得到一对类似物 zingiberene-3,6-α-endoperoxide (**504**) 和 zingiberene-3,6-β-endoperoxide (**505**)。另外，从同一植物中分离得到三种过氧羟基化合物**506～508**[87, 88]。



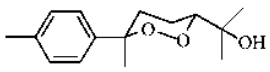
501 **502** **503** **504**

505 **506** **507** **508**

鹰爪(*Artabotrys uncinatus*)是海南岛产的番荔枝科植物,早期发现其对伯氏疟原虫有抗疟作用。从中分离得到两种抗疟活性成分[89]。鹰爪素 A(**509**)和鹰爪素 C(**510**),也是没药烷型过氧化合物,并已人工合成成功,虽然鹰爪素的抗疟作用的发现早于青蒿素,但其类似物的合成和抗疟活性筛选及应用开发尚进行中[90, 91]。

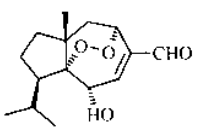


509

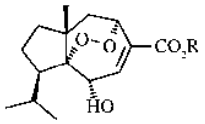


510

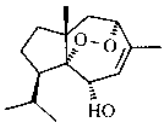
Rugosal A (**511**)、Rugosic acid(**512**)及其酯都是从玫瑰(*Rosa rugosa*)的受伤的叶中分离得到,**512** 具有对烟草切根虫幼虫的拒食作用。**512** 和 **513** 均显示抗炎症作用,这些化合物在植物中的形成和积聚。实际正是植物本身的防卫保护作用[92]。



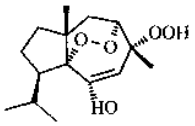
511



512 R=H
513 R=Me

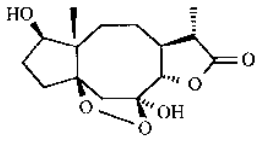


514

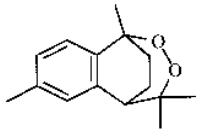


515

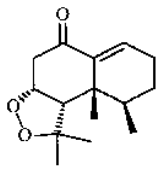
tetranolide (**516**)是从 *Artemisia difusa* 中分离得到的具有八元环的新类型骨架化合物。另一 10,12 过氧 calamene (**517**),其后从莎草(香附,*Cyperus rotundus*)中分离得到[93],这两种化合物体外试验也有抗疟作用。另外,化合物 nordosinone (**518**),也具有细胞毒及其抗疟活性。



516

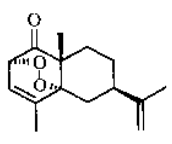


517

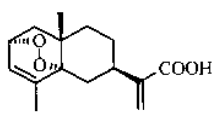


518

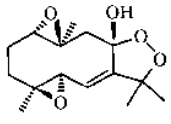
愈牛儿烷(germacrane)、愈牛儿内酯(germacranolide)、桉叶烷(eudesmane)和桉叶烷内酯(eudesmanolide)的过氧化合物广泛存在于千里光属 *Senecio*、姜黄属 *Curcuma*、熊菊属 *Ursinia*、*Porella*、菊属 *Chrsanthemum*、蒿属 *Astemisia* 等属植物或地衣中,但其存在形式大多为过氧羟基化合物。也有如从 *Artemisia caerulescene* 中分离得到桉叶酮(eudesmone)型内环过氧化合物**519** 和从 *Dittrichia viscosa* 中分离得到 **520**。从莪术(温郁金,*Curcuma wenyujin*)中分离得到过氧化合物温郁金素 **521**。其结构经 X 射线衍射确证。这种稳定的半缩醛结构在天然界颇值得注意。从黄花蒿中分离得到另一个过氧化合物 arteannuin H 的过氧酯类**522**,其结构也比较特殊[94,95]。



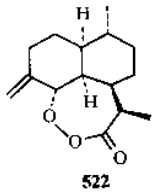
519



520

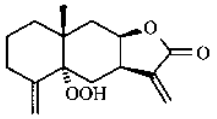


521

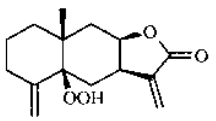


522

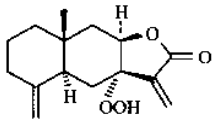
从熊菊属 *Ursinia eckloniana* 和旋覆花属 *Inula racemosa* 等植物中分离得到一些白术内酯类的过氧化物**523**、**524** 和 **525**[96, 97]。白术内酯类为中药白术的主要成分。从白术中也可以分离得到类似的过氧化物。其生理作用值得进一步研究[98]。



523

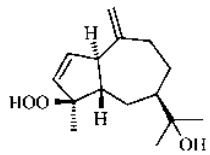


524

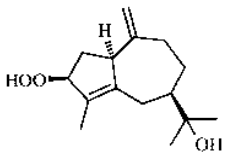


525

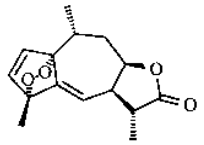
愈疮木烷及内酯类的过氧化物天然发现的也比较多。从 *Vibeur awabuki* 木材中分离得到 3-过氧羟基和 4-过氧羟基的 awabukinal **526** 和 **527**。从 *Geigeria plumose* 和 *Apalochlamys spectabilis* 中得内环过氧化物 **528～530**[99, 100]。另外，从苍耳属 *Xanthium pungens* 中分离得到另一 1,2,4-三氧六环化合物**531**[101]。但未见其生理作用的报道。



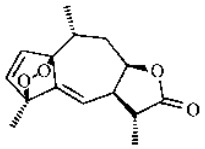
526



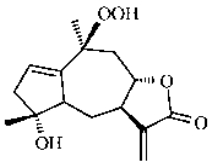
527



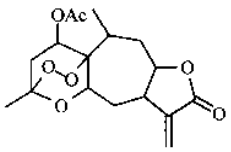
528



529

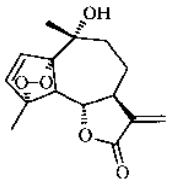


530

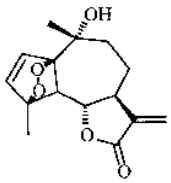


531

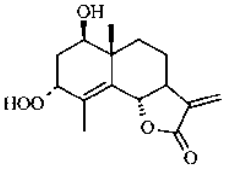
艾菊属 *Tanacetum parthenium* 为美洲药用植物，民间称 feverfew，顾名思义原为民间退热药，也用于偏头痛，是列入美国药典 NF 的植物药，从中分离得到多种倍半萜过氧化合物，其中既有过氧羟基化合物 tananparthin-α-peroxide (**532**)和 tananparthin-β-peroxide (**533**)，并分离得到内环过氧化物 allohimachalane (**535**)[102, 103]。动物试验显示具有中等强度的抑制血栓形成素及白三烯的作用。



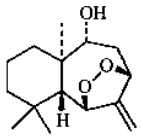
532



533



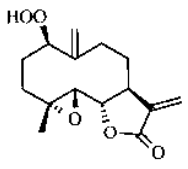
534



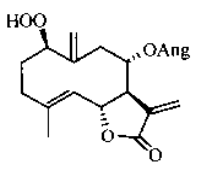
535

其他 *Tanacetum* 植物中，则被报道存在过氧羟基化合物 peroxyparthenolide (**536**)和 peroxycostunolide (**537**)[104]等。

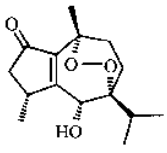
Nardostachys chinesis 中分离得到两种具有抗疟作用的 nardoperoxide (**538**) 和 isonardoperoxide (**539**)[105]。类似结构的化合物**540** 则得自海绵 (*Axinyssa*)属中。



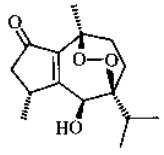
536



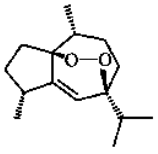
537



538



539



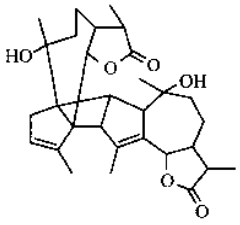
540

虽然目前发现的过氧倍半萜和倍半萜内酯类已比较多，但有关生理作用报道还相对较少。其中主要原因可能是从天然分离得到的量较少，因此最多做一些体外筛选，再者天然过氧化合物特别是过氧羟基化合物

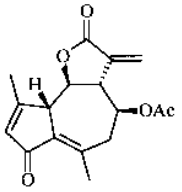
比较不稳定，口服很可能于消化吸收过程中破坏，以注射形式进行动物试验可能是值得注意的研究方法。

第十节　聚合倍半萜和结合倍半萜

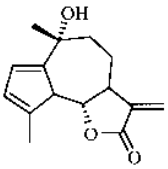
天然界还存在不少二聚，个别还有三聚倍半萜，二聚倍半萜最早从 *Artemisia* 中分离得到**541**，从中药刘寄奴（*Artemisia anomala*）中分离得到由**542** 和 **543** 分子间 Diels-Alder 反应而生成的二聚体 artanomaloids（**544**）[106]。



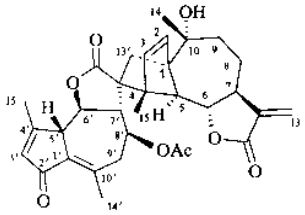
541



542

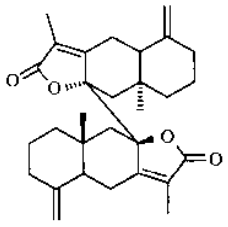


543

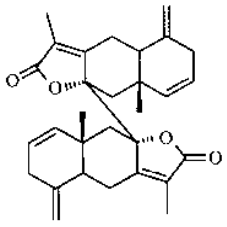


544

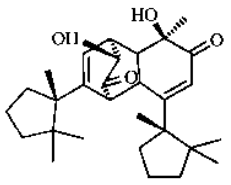
近年植物中分离得到一系列结构复杂的二聚体倍半萜，它们的聚合形式各不相同，从中药白术中分离得到白术内酯的二聚体 biatractylolide（**545**），其类似二聚体 **546**，是从 *Lindera strychnifolia* 中分离得到，它们都是由 9 位的碳碳键结合[107, 108]。aquaticol（**547**）得自水苦买（*Veronica anagallis-aquatica*），是由两分子花侧柏烷 cuparane 经分子间 Diels-Alder 反应形成。



545

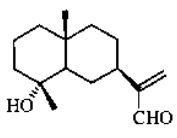


546

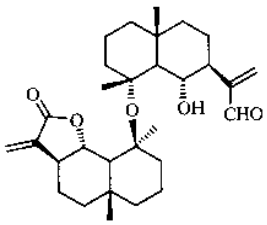


547

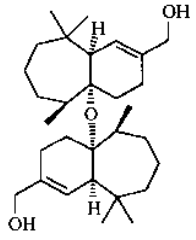
二聚体倍半萜一般认为两分子相同或不同的倍半萜经缩合形成，因此单分子和聚合体常是同时存在于同一植物中，从日本地衣 *Frullania tamarisci* 中分离得到**548** 和 **549**，而二聚体 **549** 是由 **548** 和 **548** 经进一步氧化，即 13 位醛基氧化成酸，再闭环形成的内酯，二者的 4 位羟基脱水成键的形式构成[109]。



548

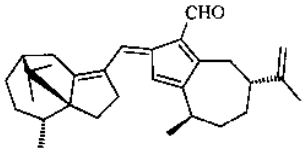


549

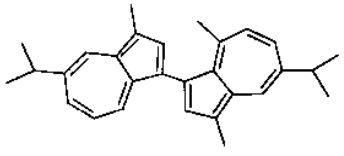


550

assafulvenal（**551**）是从 *Joannesia princeps* 中分离得到的二分子 patchoulane 构成的二聚体。从珊瑚（*Calicogorgia granulosa*）中分离得到由二分子愈疮木奠guaiazulene 组成的色素**552**。

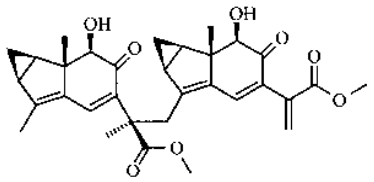


551

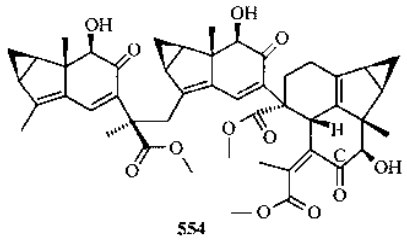


552

日本金粟兰(*Chloranthus japonicus*)中含有结构奇特的倍半萜二聚体 shizukaol (**553**)和三聚体 trishizukaol(**554**)[110]。

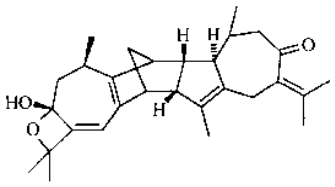


553

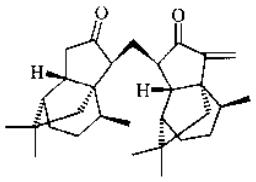


554

类似的二聚体**555** 是得自 *Xylopia aromatica* 的叶中[111]。从珊瑚 *Altertigorgia* spp. 得细胞毒成分 suberosenone 的二聚体 alertenone (**556**)[112]。

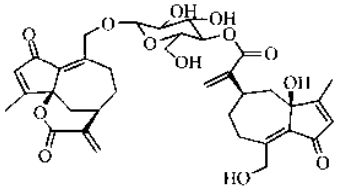


555

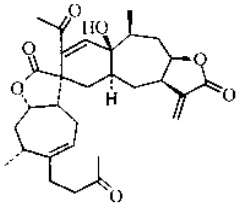


556

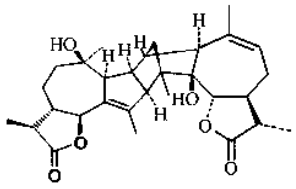
从 *Leontoden hispidus* 中分离得到一新倍半萜聚合物[113],是由二分子倍半萜中间接一分子葡萄糖,倍半萜与糖以醚键连接的化合物**557**、**557** 结构中的一个倍半萜为 C-12 位酸基与 C-5 位羟基构成内酯环,成为六元环内酯,这在倍半萜中并不多见。



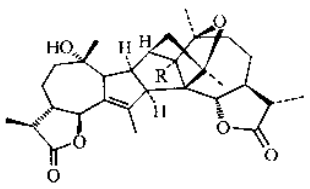
557



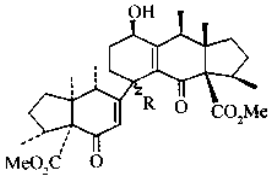
561



558



559 R=OH
560 R=H

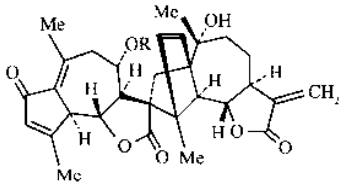


562 R=β-H
563 R=α-H

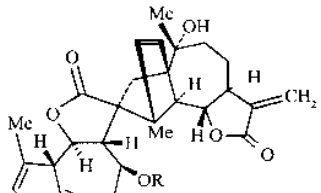
从 *Artemisia selengensis* 中分离得到倍半萜内酯二聚体 artselenoide (**558**),从 *Daphne oleoid* 中得到二聚倍半萜内酯 seemarin(**559**)和 anabsinthin(**560**)[114, 115],从 *Xanthium strumarium* 的果中分离得到 xanthanolide 的二聚体 pungiolide (**561**),以及从地衣 *Porella acutifolia* 和 *P. grandilob* 中得到 bisacutifolone A (**562**)和 B(**563**)。

从 *Artemisia sylvatica* 中存在多种二聚倍半萜内酯 arteminolides A~F (**564~569**)[116]。

上述倍半萜二聚体是倍半萜与倍半萜的结合,而自然界还有很多倍半萜与其他类型天然产物结合,这种结合倍半萜存在较普遍,结合的形式以芳香环为多,因而生理作用非常值得注意,自然界还有不少含氮的倍半萜或倍半萜与生物碱结合,它们的生理作用更是备受关注。

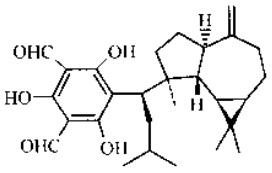


564 R=Val
565 R=Sen
566 R=Ang
567 R=Tig

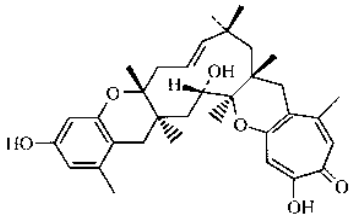


568 R=Ang
569 R=Val

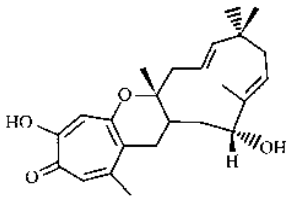
化合物**570**得自马兜铃属 *Aristolochia cucurbitifolia*，从真菌 *Phoma* sp. 中得到多种与 tropolone 类结合的倍半萜 epolone A（**571**）、B（**572**）和 pycnidione（**573**）[117]。



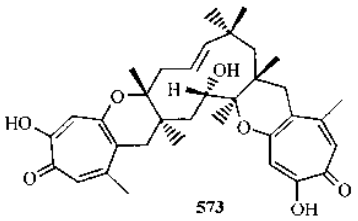
570



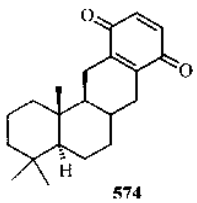
571



572

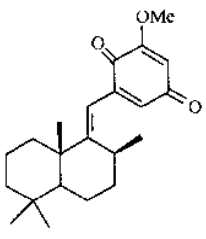


573

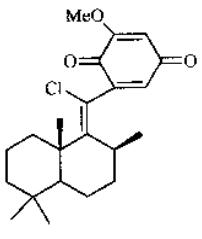


574

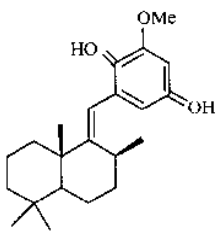
近年来，从海洋生物及真菌产物中分离得到很多倍半萜与酚性物质结合的化学成分，它们常具有一定的生物活性。从棕藻（*Dictyopteris undulata*）中分离得到 cyclozonarone（**574**）、**574** 具有昆虫拒食作用，从澳大利亚宽海绵属 *Eurypongia* sp. 中分离得到倍半萜苯醌类化合物 deoxyspongiaquinone（**575**）及（*E*）-chlorodeoxyspongiaquinone（**576**）、spongiaquinone（**577**）和（*E*）-Chlorospongiaquinol（**578**）、（**574**）和 **578** 均为 drimane 型倍半萜化合物。



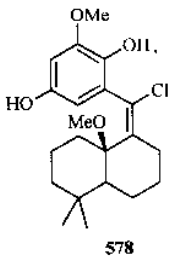
575



576



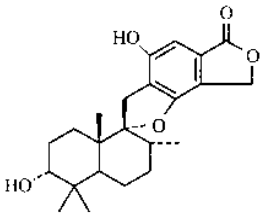
577



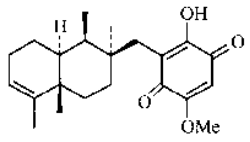
578

从红海绵 *Smenospongia* sp. 中分离得到 smenotronic acid 的衍生物**579**。从菲律宾海绵 *Dysiaquinone* 中分离得到 bolinaquinone（**580**）。从海绵 *Polyfibrosponia australis* 中分离得到 polyfibrospongol A（**581**）和 B（**582**）。

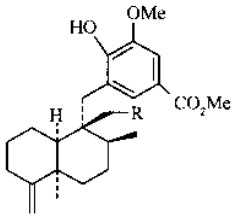
从宽海绵 *Eurypongia* 属的未鉴定种中分离得到 frodosin A（**583**）和 D（**584**），二者均具有抗 HIV 病毒活性[118]。从真菌培养发酵液中得 Sch 65676（**585**）、BE 40644（**586**），它们具有对巨细胞病毒 cytomegalovirus 有抑制作用，**585** 为 thioredoxin 抑制剂[119, 120]。从真菌 *Memnoniella echinata* 中分离得到 ATCC 20998 A（**586**）、**586** 为 IMP 酶拮抗剂。从真菌 *Penicillium simplicimum* 得 simplicissin（**588**）、**588** 具



579

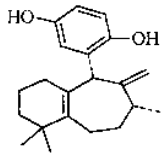


580

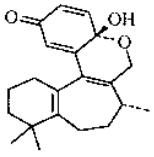


581 R=H
582 R=OH

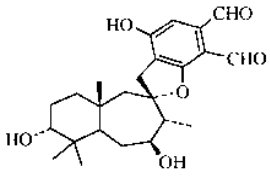
有花粉生长抑制作用。从真菌 LL-23G227 等中得抗菌物质 hongoquercin A (**589**)、B(**590**)和 (+)-hyatellaquinone (**591**)[121, 122]。



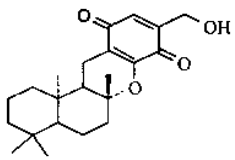
583



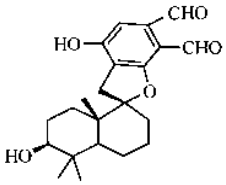
584



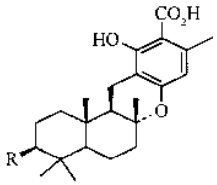
585



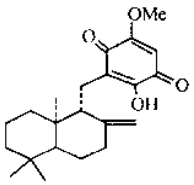
586



588

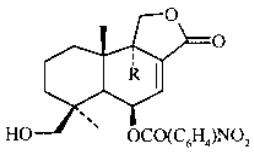


589 R=H
590 R=OAc

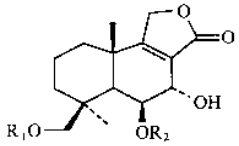


591

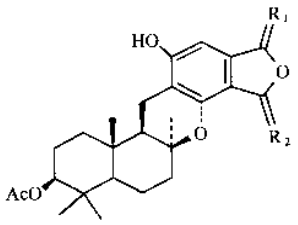
Aspergillus versicolor 是生长于加勒比绿藻表面的真菌。从其培养物中可得 insulicolides **592**、**593**、**594** 和 **595**，四者均有强细胞毒作用。



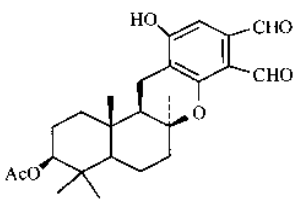
592 R=OH
593 R=H



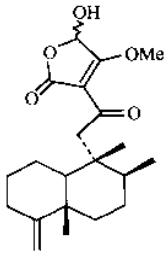
594 R_1=H, R_2=$CO(C_6H_4)NO_2$
595 R_1=$CO(C_6H_4)NO_2$, R_2=H



596 R_1=O, R_2=H_2
597 R_1=R_2=OMeH

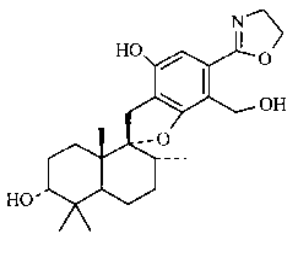


598

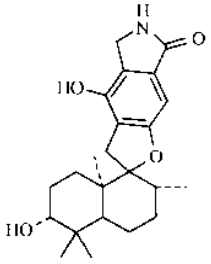


599

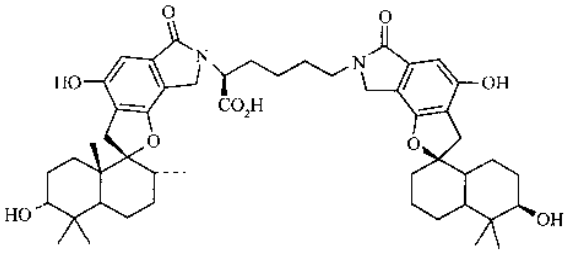
从 *Stachybotrys* 中得到多种倍半萜与苯酞结合的化合物**596**～**602**，其中 kampanols A (**596**)、B(**597**)和 C(**598**)得自 *S. kampalensis*，它们均为茴香烯-蛋白质转移酶(farnesyl-protein transferas)抑制剂，从 *S. allernans* 得 stachybotrin (**599**)，从 *S.* sp. 中得倍半萜与酰胺结合的化合物**601** 及其二聚体 **602**、**601** 和 **602** 均为内皮细胞受体 endothelin 拮抗剂[123, 124]。



600

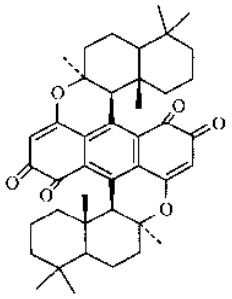


601

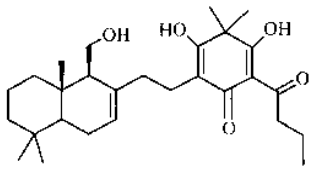


602

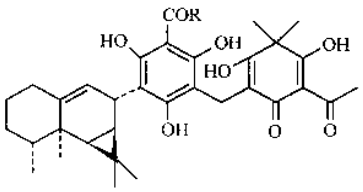
从海绵 *Hyrtios* sp. 中分离得到红色结合倍半萜 dipuupehedione (**603**)、**603** 为二分子 drimane 倍半萜与蒽醌的结合体[125]。蕨类植物中存在很多间苯三酚型化合物。近年从蕨类植物中分离得到一些倍半萜与间苯三酚型结合物均为从香鳞毛蕨(*Dryopteris fragrans*)中得 dryofragin (**604**),从鳞毛蕨 (*D. atrata*)中得 phloroglucinol A (**605**)和 B(**606**)[126]。



603

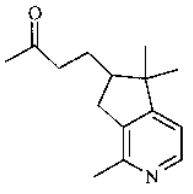


604

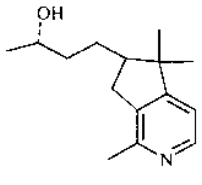


605 R=Me
606 R=CH_2—CH_2—Me

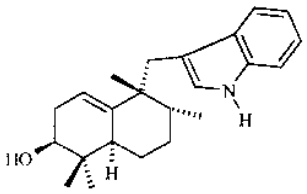
上述**592～595**、**600～602** 均为含氮化合物,含氮天然产物广义说均可列入生物碱的范畴。含氮化合物具有较广泛的生理作用所以受到重视。倍半萜中也有这些含氮化合物或倍半萜与生物碱结合的化合物,也必然要进行广泛的生物活性筛选,以评价其药用价值。近年发现的含氮倍半萜较多,从莎草(*Cyperus rotunda*)中分离得到两种倍半萜生物碱 rotundin A (**607**)和 B(**608**)[127],从番荔枝科鸡爪树属植 *Polyalthia oliveri* 中分离得到多种倍半萜吲哚生物碱 polyathenol (**609**)、polyveoline (**610**)、isopolyalthenol (**611**) 和 neopolyalthenol(**612**)[128]。



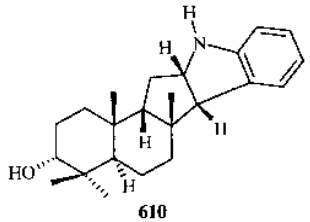
607



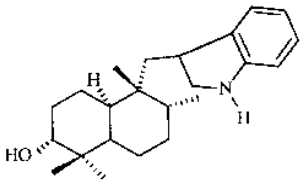
608



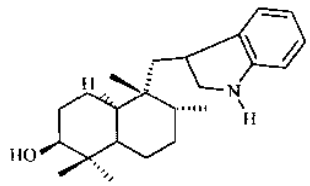
609



610



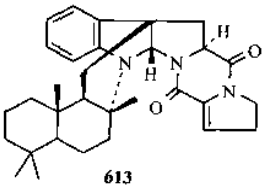
611



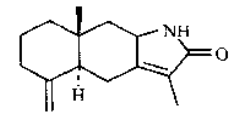
612

从放线菌 *Actinomycetes* 属 MST-8651 菌种的发酵液中分离得到一系列具有 drimentines (**613**)类型结构的生物碱,该类型化合物具有抗菌和抗肿瘤作用[129]。从中药白术(*Atractylodes macrocephala*)中分离得到倍半萜内酰胺(atractylenolactam, **614**)[130],其类似的 clavulinin (**615**)是得自软珊瑚(*Clavularia inflata*)。

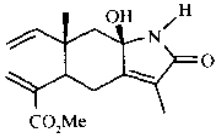
两种具有 trachyopsane 骨架的化合物**616** 和 **617** 是得自海绵（*Axinyssa aplysinoides*）[131]。



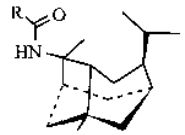
613



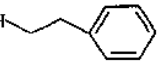
614



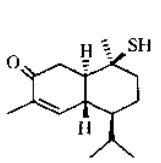
615



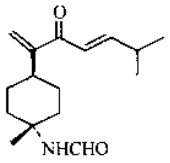
616 R= H
617 R=



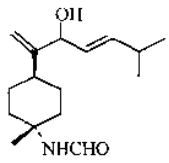
从热带海洋海绵（*Cymbastela hooperi*）中得到含硫倍半萜（T-cadinthiol，**618**）[132]；从密克罗尼西亚 yap 岛海绵 *Axinyssa* sp. 中得到三种没药烷型含氮化合物 **619**～**621**[133]、4α-formamidogorgon-11-ene（**622**）、4α-isocyanogorgon-11-ene（**623**）及它们的环合物 **624** 和 **625**[134]。



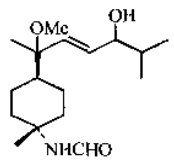
618



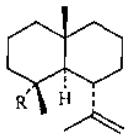
619



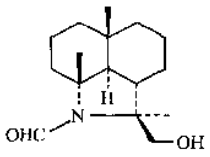
620



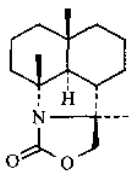
621



622 R=—NHCHO
623 R=—NC

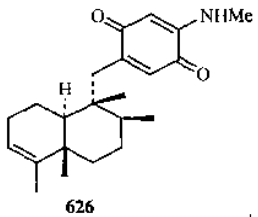


624

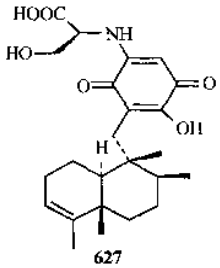


625

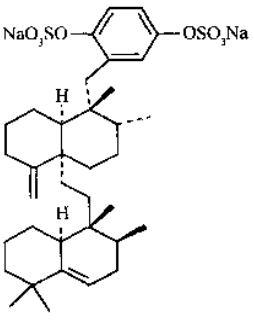
此外，前述从海洋生物中分离得到的倍半萜也存在其含氮衍生物，如从贪婪倔海绵（*Dysidea avara*）中得到的 4-methylaminoavarone（**626**）和从未检定种的海绵中分离得到的 nakijiquinone（**627**）。



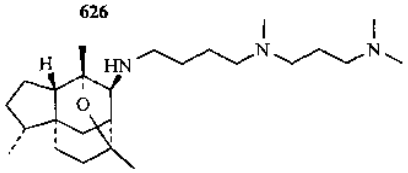
626



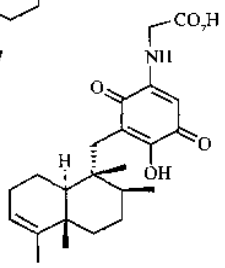
627



628

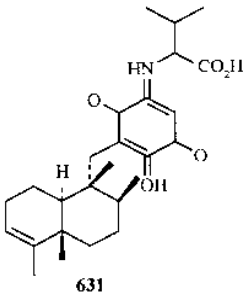


629

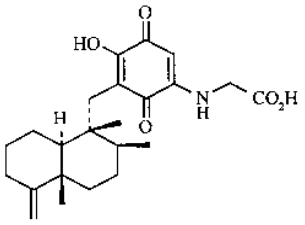


630

从海洋生物中还可以分离得到一系列萜类磺酸基化合物，叫形成水溶性的磺酸盐，从美丽海绵属 *Callyspongia* 中分离得到 akaterpin (**628**)、**628** 具有抑制磷酸化酶的活性[135]。hispidospermidin (**629**)是得自 *Chaeronema hispidulum*，也是结构新颖的磷酸化酶-C 抑制剂[136]。天然界还存在一些与氨基酸结合的倍半萜，如得自 Spongiidae 科海绵的 nakijiquinone A (**630**)和 B(**631**)，二者具有抗真菌活性[137]。与甘氨酸结合的 glycinylilimaquinone (**632**)，是得自菲律宾的畸形海绵 *Fasciospongia*[138]。



631



632

天然界还存在很多倍半萜与糖结合的苷类，在此不再详述，从前述的一系列倍半萜类化合物的奇特结构足见自然界在生物合成中的鬼斧神工。这也为天然产物工作者提供了广阔的工作领域。

参 考 文 献

[1] Fischer N H et al. Prog Chem Natural Products, 1979, 38:47
[2] Fraga B M Nat Prod Rep, 1995, 12:303
[3] Fraga B M. Nat Prod Rep, 1996, 13:307
[4] Fraga B M. Nat Prod Rep, 1997, 14:145
[5] Fraga B M Nat Prod Rep, 1998, 15:73
[6] Fraga B M. Nat Prod Rep, 1999, 16:21
[7] Fraga B M. Nat Prod Rep, 1999, 16:711
[8] Fraga B M. Nat Prod Rep, 2000, 17:483
[9] Cane D E. Comprehensive Natural Products Chemistry. 2, Pergamon
[10] Faulkner D J et al. Nat Prod Rep, 2000, 17:7
[11] Faulkner D J et al. Nat Prod Rep, 2001, 18:1
[12] Nawamaki K et al. Phytochem, 1996, 43:1175
[13] Kim S K et al. Bioorg Med Chem, 1998, 6:1975
[14] Wang Y et al. J Nat Prod, 1997, 60:178
[15] Sano S et al. J Org Chem, 1999, 16:79
[16] Einhorn J et al. Proc Natl Acad Sci USA, 1998, 95:9867
[17] Chrock J et al. Proc Natl Acad Sci USA, 1997, 94:1283
[18] McCloud TG et al. Nat Prod Lett, 1996, 9:87
[19] Morris T C et al. J Nat Prod, 1996, 59:869
[20] Morris T C. Bioorg Med Chem, 1999, 7:881
[21] Dufresne G et al. J Nat Prod, 1997, 60:188
[22] Kupchan S M et al. J Org Chem, 1977, 42:4221
[23] Misra R et al. Chem And Biochem, 1981, 2:145, CRC Press
[24] Pettit G R et al. J Med Chem, 1974, 17:1013
[25] Lee K H et al. J Chem Soc Comm, 1976, 431
[26] Christensen S B et al. J Org Chem, 1982, 47:649
[27] 青高素抗疟协作研究组. Chinese Med J, 1979, 92:811
[28] Lee Y et al Bioorg Med Chem Lett, 2001, 11:5
[29] Takaya Y et al. Tetrahedron Lett, 1998, 39:1361
[30] Oh H et al. J Nat Prod, 1999, 62:497
[31] Hatanaka H et al. J Antibiot, 1988, 41:499, 999
[32] Patil A D et al. Tetrahedron, 1997, 53:5047
[33] Dai J R et al. Nat Prod Lett, 1997, 10:115

[34] Singh S B et al. Tetrahedron Lett, 1999, 40: 8775
[35] Soranaphun U et al. Planta Med, 1999, 65: 257
[36] Andersson M et al. Planta Med, 1997, 63: 251
[37] Fleischer T C et al. J Nat Prod, 1997, 60: 1054
[38] Kwon B M et al. US Patent, 1998, US 5801254
[39] Fischer N H et al. Phytochem, 1998, 49: 559
[40] Cho J Y et al Planta Med, 1998, 64: 594
[41] 陈仲良. 化学通报, 1984: 57
[42] Kupchan S M et al. JOrg Chem, 1969, 34: 3876
[43] Baruah N C et al. J Org Chem, 1979, 44: 1831
[44] Wolfender J L et al. Phytochem Analysis, 1994, 5: 153
[45] Maillard M P et al. J Chromatogr, 1993, 647: 147
[46] Hamburger M et al. Nat Toxins, 1993, 1: 315
[47] Vogler B et al J Nat Prod, 1998, 61: 175
[48] Jaspars M. Nat Prod Rep, 1999, 16: 241
[49] Bohlmann F, Chen I et al. 科学通报英文版, 1984, (29): 900
[50] Samek Z. Tetrahedron Lett, 1970, 6: 71
[51] Bohlmann F, Chen I et al. Phytochem, 1982, 21: 2120
[52] Bohlmann F, Chen I et al. Phytochem, 1981, 20: 1613
[53] Sriraman M C. Tetrahedron, 1973, 29: 985
[54] Yamada K et al Tetrahedron, 1968, 24: 199
[55] Yamada K et al. Tetrahedron, 1968, 24: 1255
[56] Yamada K et al. Tetrahedron, 1968, 24: 1246
[57] Tetraheron Lett, 1965, 4785
[58] Tetraheron Lett, 1965, 4797
[59] Herz W et al. Phytochem, 1981, 20: 99
[60] 稻垣冬彦. 化学领域, 1983, 增刊: 141, 1
[61] 稻垣冬彦. 化学生物, 1985, 22: 122
[62] Ziffer H et al. Fortschritt Chem Naturstoff, 1997, 72: 121, Springer
[63] Luo X D et al Med Res Rev, 1987, 7: 29
[64] 刘静明等. 化学学报, 1979, 37: 129
[65] Galal A M et al. J Nat Prod, 1996, 59: 917
[66] Qinghaosu Antimalaria Coordinating Research Group. Chin Med J, 1979, 92: 811
[67] 顾浩明等. 中国药理学报, 1980, 1: 48
[68] 顾浩明等. 中国药理学报, 1982, 3: 139
[69] Gu H-M et al. J Trad Chin Med, 1983, 3: 95
[70] 朱大元等. 药学学报, 1980. 15: 509
[71] 朱大元等. 中国药理学报, 1983, 4: 194
[72] Gu H M et al. Trans R Soc Trop Med Hyg, 1984, 78: 265
[73] Chin Cooperative Research Group on Quinhaosu and Its Derivatives as Antimalarials. J Trad Chin Med, 1982, 2: 45
[74] Klayman D L et al. Science, 1985, 228: 1049
[75] Posner G H et al. J Med Chem, 1994, 37: 1256
[76] Avery M A et al. J Med Chem, 1995, 38: 5038
[77] Lin A G et al. J Med Chem, 1989, 32: 1247
[78] Lin A G et al. J Med Chem, 1995, 38: 764
[79] Avery M A et al J Med Chem, 1996, 39: 2900
[80] Avery M A et al. J Med Chem, 1996, 39: 4149
[81] Avery M A et al. J Med Chem, 1996, 39: 1885
[82] Ma J et al. Bioorg Med Chem Lett, 2000, 10: 1601
[83] Acton N et al. J Med Chem, 1993, 36: 2552
[84] Lin A J et al. J Med Chem, 1990, 33: 2610
[85] Bohlmann F et al. Phytochem, 1982, 21: 2691
[86] Marco J A et al J Nat Prod, 1994, 57: 939
[87] Sy L K et al. Phytochem, 1997, 45: 537

[88] Barrero A F et al. Phytochem. 1990,29:3213
[89] 梁晓天等. 化学学报,1979,37:215
[90] Wolf M E. 'Antimalarial Agents' in Burger's Medicinal Chem And Drug Discovery Wiley, New York, 1997
[91] Hofheinz W et al. Trop Med Parasitol, 1994, 45:261
[92] Hashidoko Y et al. J Chem Soc Perkin Trans, 1991:211
[93] Thebtaranonth C et al. Phytochem, 1995, 40:211
[94] Gao J F et al. Chem Pharm Bull, 1989, 37:233
[95] Gao J F et al. Chem Pharm Bull, 1991, 39:854
[96] Goyal R et al. Phytochem, 1990, 29:2341
[97] Goren N. Phytochem, 1995, 38:1261
[98] Zhang Q F et al. Chin Chem Lett, 1998, 9:1097
[99] Zdero C et al. Phytochem, 1989, 28:3105
[100] Zdero C et al. Phytochem, 1990, 29:3201
[101] Ahmed A A et al. Phytochem, 1990, 29:2211
[102] Bohlmann F et al. Phytochem, 1982, 21:2543
[103] Hewlett M J et al. J Chem Soc Perkin Trans. 1996, 1979
[104] Goren N et al. Phytochem, 1994, 36:389
[105] Takaya Y et al. Tetrahedron lett, 1989, 39:1361
[106] Jakopovic J, Chen I, et al. Phytochem, 1987, 26:2777
[107] Lin Y et al. J Nat Prod, 1997, 60:27
[108] Kuono I et al. Phytochem, 1997, 46:1283
[109] Toyota M et al. Chem Pharm Bull, 1998, 46:542
[110] Kawabata J et al. Phytochem, 1998, 47:231
[111] Martina D et al. Phytochem. 1998, 48:677
[112] Bokesch H R et al J Nat Prod, 1999, 62:633
[113] Zidorn C et al. Phytochem, 1998, 49:797
[114] Hu J F et al. J Asian Nat Prod Res, 1999, 1:169
[115] Ullah N et al. Phytochem, 1999, 51:559
[116] Kwon B M et al. US 5801254, CA 1998, 129, 186848
[117] Cai P et al. J Nat Prod, 1998, 61:791
[118] Hallock Y F et al. Nat Prod Lett, 1998, 11:153
[119] Chu M et al. Tetrahedron Lett, 1996, 37:3943
[120] Torigoe K et al J Antibiot, 1996, 49:314
[121] Roll D M et al. J Antibiot, 1998, 51:635
[122] Abbanat D A et al. J Antibiot, 1998, 51:708
[123] Roggo B E et al. J Antibiot, 1996, 49:374
[124] Yagmuma S et al. J P 7330622, [95330622], CA 1995, 124:200280
[125] Bourguet-Kondracki M L et al. Tetrahedron Lett, 1996, 37:5719
[126] Fuchino H et al. Chem Pharm Bull, 1997, 45:1101
[127] Jeong S J et al. J Nat Prod, 2000, 63:673
[128] Kunesch N et al. Tetrahedron Lett, 1985, 26:4937
[129] Lacey E et al. PCT Int Appl WO, 1998, 9809968
[130] Chen C Z et al. Phytochem, 1997, 45:765
[131] Patit A D et al. J Nat Prod, 1997, 60:507
[132] Belofsky G N et al. Tetrahedron, 1998, 54:1715
[133] Li C J et al J Nat Prod, 1999, 62:1330
[134] Fu X et al. J Nat Prod Lett, 1998, 12:75
[135] Fukami A et al. Trahedron Lett, 1997, 38:1201
[136] Hashimoto T et al. Tetrahedron Lett, 1994, 35:4787
[137] Shigemori H et al. Tetrahedron, 1994, 50:8347
[138] Evans T P et al. Nat Prod Lett, 1994, 4:287

(陈仲良)

第七章　昆虫激素与信息素

第一节　引　　言

我们周围化学物质很多，一头雄蛾可嗅到 1km 外雌蛾的气味，但人感觉不到。据估计世界上至少有 2 万余种植物和昆虫有着密切的相互依存关系。这些植物种类在生长发育过程中产生了约 10 万种次生代谢产物，有 4 万～5 万种已鉴定出化学结构，其中包括 6000 多种生物碱、3000 多种萜类、数千种苯丙酸类化合物、1000 多种黄酮类化合物、500 多种酰类化合物、650 多种聚乙炔类化合物和 400 多种氨基酸类衍生物。这些次生代谢产物中的大部分对植物正常生长发育并不很重要，但研究表明，它们却在植物与昆虫相互依存关系中显得非常重要。植食性昆虫是利用寄主植物释放的化学信号来确定自己的飞行行为，从而准确地找到寄主植物的。如果没有植物气味的存在，多数植食性昆虫找到寄主植物的概率非常低，将直接影响到这些种类昆虫的生存繁衍。

迄今为止的研究已表明，植物释放的化学信息可分为两类：一类是植物本身在生长发育过程中所释放的挥发性气味物质，这些气味物质诱导着昆虫产生寄主定向行为、逃避行为、产卵场所选择行为、刺激雌雄交配、取食、聚集和传粉行为等；第二类化学信息则是植物受到昆虫攻击后才产生和释放的，这些化学信息招引捕捉性天敌来抵御外来害虫的攻击，起着互利素的作用或是释放一些气味物质作为同种植物个体间的告警化学信号，有的甚至释放能抑制植食性昆虫幼虫取食的化学物质等。

1966 年，化学家 Florkin 在《分子在适应性与系统发生中的作用》一书中提到："在生物化学的连续系统网络中，有一种明显的分子或大分子流，它们携带着一定量的信息。"这是化学生态学将要诞生的先兆。

20 世纪 70 年代初，关于动植物间相互作用的生物化学研究成果引起人们的兴趣，后来又有更多的化学生态学专著或教科书相继问世。于是化学生态学(chemical ecology)应运而生，它是帮助人们了解自然的一把钥匙。随着近代超微量化学分析技术的飞速发展，已可测定纳克级的样品(1ng 纯化学物质即可确定出化学结构)，从而大大促进了昆虫激素和信息素的研究。

1975 年，在美国创刊 *Journal of Chemical Ecology*，其中有关昆虫的占 60%～80%。法国有机化学家 Barbier 所著的 *Introduction to Chemical Ecology* 于 1976 年出版。他对化学生态学的定义：研究活着的生物之间及生物和矿物之间的化学相互作用的科学。他把 1792 年 Lavoisier(拉瓦锡)提出的物质大循环的概念都包括在上述定义中了，故他称化学生态学是最完整的生态学，他把过去的个体生态学、种群生态学、群体生态学都包括在内，包括了三流(物质流、能量流、信息流)。他对上述三种生态学的提法分别是：个体生态学(autecology)、同种生物生态学(demecology)和多种生物生态学(synecology)。许多生态学分支是研究物质和能流的，如能量生态学、营养生态学等，而化学生态学主要是研究信息流的，实际上，信息流是带有信息的特殊物质。Barbier 的定义太宽，现在化学生态学的定义已逐渐变窄，限于带有信息的物质。植物与动物的关系，这是化学生态最热门的研究领域，强调植物中的次生性代谢物与动物关系极大。英生物化学家 Harborne 在《生态生物化学导论》中提出："化学生态学就是植物与动物相互关系的生物化学"，此定义不一定对，但反映了"热点"。

图 7-1 中简示出各种信息化合物在昆虫大脑神经中的作用位点。

据报道，已知的昆虫在 100 万种以上，占陆地动物种类的 4/5，这是由于其具有独特的生命过程和适应周围环境的能力。昆虫在一生的发育过程中形态要发生十分明显的变化：从卵到幼虫，经过蛹变成成虫，这个过程称为变态(metamorphosis)。控制变态过程的化学物质称为变态激素(metamorphosis hormone)，也就是一般所指的昆虫激素。根据作用不同，又可分为脑激素、蜕皮激素及保幼激素。图 7-2 是蜕皮激素和保幼激素作用于不完全变态和完全变态昆虫的生命循环各阶段的简化示意图。

昆虫向体外分泌多种化学物质，用于昆虫之间传递信息，称之为信号化合物(semio chemical)，semiochemical 一词来源于希腊语的词根"semeion"，其含义即为信号，信号化合物又可被称为信息化合物(info-

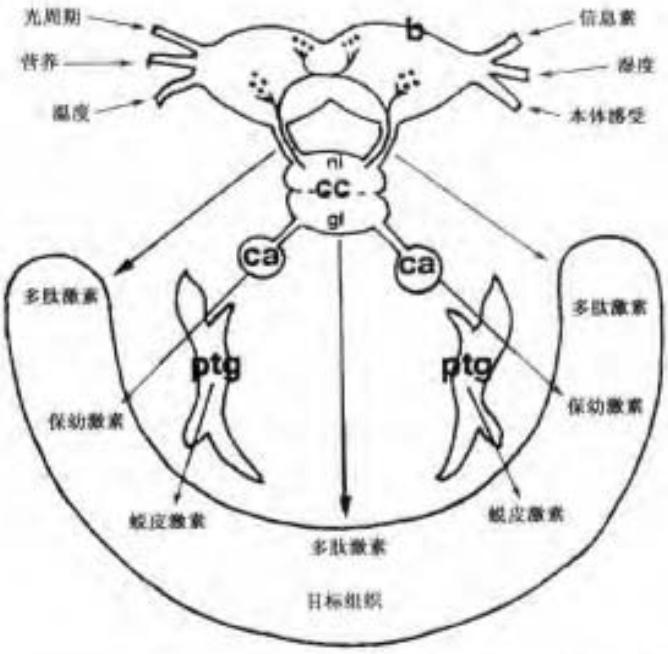


图 7-1　理想化的昆虫大脑心侧体(cc)、咽侧体(ca)、前胸腺(ptg)及其外围组织示意图
反映了一些相关的刺激和分泌。黑点代表神经分泌细胞；
nl 代表神经分泌细胞围突，gl 代表心侧体的腺状围突

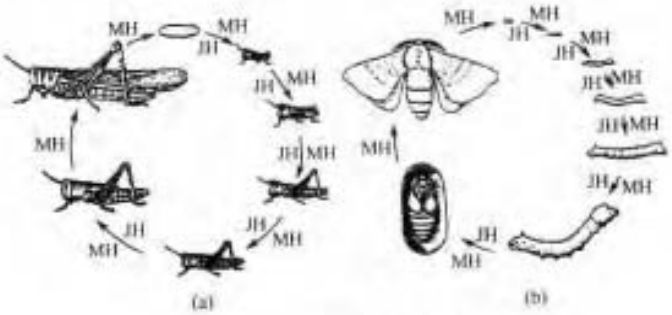


图 7-2　昆虫生命周期简化示意图
(a)不完全变态昆虫；(b)完全变态昆虫，显示蜕皮激素(MH)和
保幼激素(JH)的作用位点

chemical)或化学信使(chemical messenger)，其中作用于同种个体间的物质，称作信息素(pheromone)，信息素一词也来源于希腊语 pherein(to tranfer + hormon = to excite)，它是由昆虫分泌，可被同种生物体接收并引起一系列特定生理反应的物质的总称，信息素与激素(hormone) 对比而言是一种外激素，而在异种个体间传递信息的物质称为交互化合物或他感化合物(allelochemical)。这类带有信息的物质曾有许多提法，如 Whittaker 和 Feeny 于 1971 年提出了一种分类系统：交互化合物中引起对方的生理反应和行为而有利于自己的物质，称为利己素(allomone)，反之称为利他素(kairomone)，还有一类物质对双方均有利，称为协同素(synomone)。另外，还有非生源协同素(apneumone)。利己素又可细分为：忌避剂(repellent)、逃避物质(escape substance，如墨斗鱼的墨)、抑制剂(suppressant，抗生素等)、毒物(venom，如蜜蜂的蜜毒)、诱导剂[inductant，如形成虫瘿(gall)的物质]、反抗剂(conteractant)、引诱剂(attractant)等。利他素可分为：化学引诱剂(chemical lure)、诱导剂(inductant，对环境适应)、警戒信号(warning signal)、刺激物(stimulant)。信息素又可分为性信息素(sex pheromone)、集合信息素(aggregation pheromone)、追踪信息素(trail pheromone)、取食信息素

(feeding pheromone)及告警信息素(alarm pheromone)等。信号化合物的命名如图 7-3 所示。

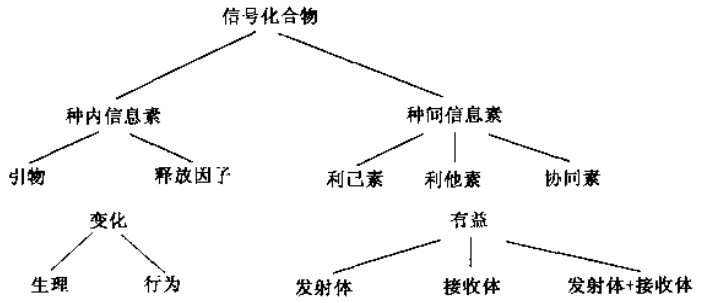


图 7-3 信号化合物的命名

图 7-3 所示分类系统是国际上常用的,但有些信号化合物在"种内"和"种间"的划分上有时不确切,如 alarm pheromone 对一种蚜虫是逃,并对其他种蚜虫也有效,对社会性昆虫则是准备打仗。又如 sex pheromone 在适量时是性诱,过量后就对其他种起作用了。总之,有些信息素是多种作用的。上述化合物有一个共同的特点就是含量很少,生理作用却极为显著。

在自然界中,与食物网相平行的是信息化合物网。信息化合物通过调节生物种内及种间的相互关系,在维持和构建整个群落结构中起着重要的作用。昆虫在寻找寄主、配偶和产卵场所等一系列过程中,信息化合物也起着重要作用。影响植食性昆虫行为的信息化合物一方面来自寄主植物的挥发性物质;另一方面来自同种昆虫或异种昆虫释放的各种信息素,或者两者协同作用的结果。寄生性天敌通过识别寄主植物的挥发性物质和昆虫特异性信息素进行寄主的定向、鉴别和选择。因此,研究寄主植物的挥发性物质、昆虫信息素及这两种信息化合物的协同作用可以探索昆虫各种行为的内在机制,为研制植源引诱剂,提高诱剂的效能提供理论依据。更重要的是,有助于我们更好地研究寄主—昆虫—天敌三层营养关系的实质,在利用天然生物活性物质防治害虫、抗虫育种和生物防治中具有积极的意义。

在植物与昆虫间的化学通信中植物气味物质起着决定性的作用,它调控着昆虫的多种行为,如引诱昆虫趋向寄主植物、刺激昆虫取食、引导昆虫选择产卵场所、进行传粉和防御昆虫等。有些植物则当受到食植性昆虫危害时会释出一些引诱害虫天敌的化学信号。这些化学信号是一些挥发性萜类成分,天敌昆虫就以此来区分受害和未受害植株。尽管目前在害虫综合治理中,昆虫信息素的应用越来越显得比天然植物气味源受重视,但是必须指出的是,昆虫信息化合物首次成功地使用于植物保护的却是天然植物气味源。在利用植物气味源做害虫测报和防治中,近年来一种简单、价廉的黏胶诱捕器已成为多种害虫的标准测报工具。在害虫综合治理中利用植物气味源的技术显然是具有不可估量的潜力。

信息素效果与感受的程度取决于生物的生理状况,诱虫时不能期望把所有的虫子都诱来,因为它们个体之间的生理状态差异很大,故不同于化学农药。又如芥子油对菜粉蝶和小菜蛾就是用量少时起引诱作用,量大时起抑制作用。信息素的使用,不是量越大越好,这里有个阈值,大过此值后效果反而不好。

有关昆虫激素和信息素的生理作用、化学分离、结构研究、化学合成、生物合成及应用研究均有详尽的综述[1~8]。

第二节 昆虫变态激素

一、昆虫蜕皮激素

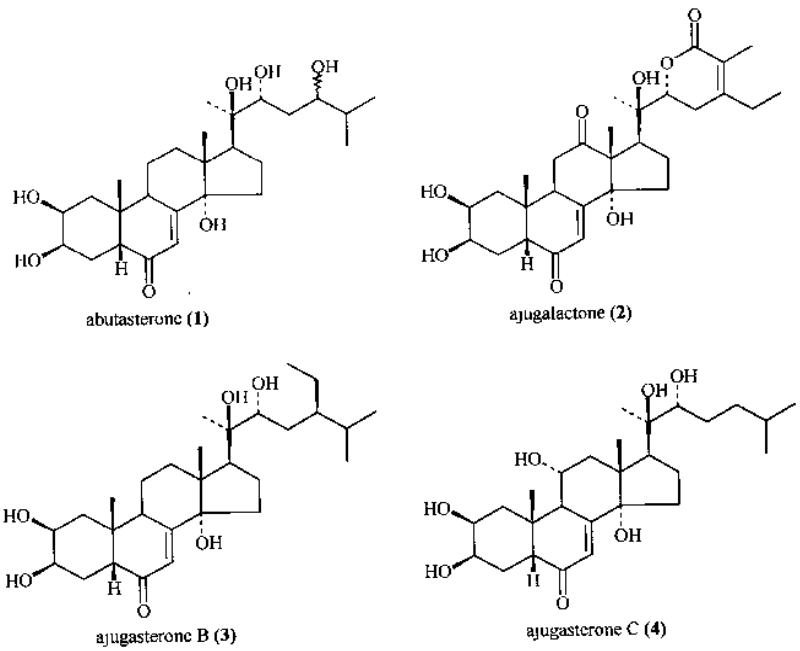
昆虫变态激素(moulting hormone, MH)最初发现于昆虫体内,是调节昆虫变态的激素,如脱皮酮(ecdysone)称为蜕皮激素,是一类具有促蜕皮活性的物质,它能促进细胞生长,刺激真皮细胞分裂,产生新的表皮并使昆虫蜕皮。对于昆虫的作用在于活性特殊的遗传因子,以产生核糖核酸从而直接合成某些适当的酶导致昆虫变态。对人体也有促进蛋白质的合成、排除体内胆甾醇降低血脂及抑制血糖上升等活性,曾用于

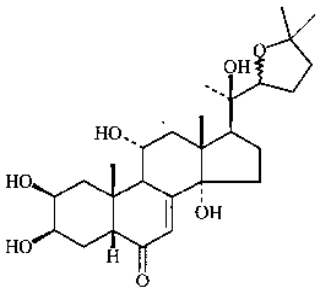
临床。蜕皮激素是昆虫的幼虫蜕皮时必需的激素。蜕皮激素的含义，对于现在来说已过于狭窄，因为这类甾体化合物存在于昆虫生长发育的全过程。蜕皮激素由于含量极低，又由于早期的实验条件及科学水平的限制，分离与结构测定都十分困难。Butenandt 和 Karlson 经过 11 年的努力，在 1954 年发表了从 500kg 的蚕蛹分离得到 25mg 的蜕皮素结晶[9]。后来又发现此结晶含有两种成分：主成分为 α-蜕皮素（α-ecdysone，**28**），另一种极性稍大的物质称为 β-蜕皮素（β-ecdysone，**34**）。由于样品量少，测定结构在当时是很困难的，最后在 1965 年用 X 射线衍射法决定了其结构[10]。

二、植物蜕皮激素

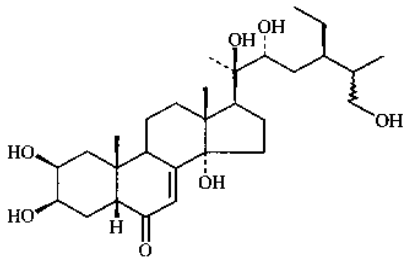
昆虫变态激素除了存在于昆虫体内，在植物界中也发现有昆虫变态激素化合物，这件事引起了国内外的兴趣，从而对中草药中昆虫变态激素类成分的研究引起了重视。1966 年，首次报道植物界中也有昆虫变态激素的存在；次年竹本长松等报道了许多中草药中的昆虫变态激素活性试验结果，发现许多羊齿类植物和不少高等植物的根、叶的提取物具有此种激素的活性并自其中分离出结晶形激素，其中蕨类植物中所含蜕皮激素最多。霉菌和海藻类则无此种活性。

1966 年，在 α-蜕皮素结构确定不久，从植物中也分到了蜕皮激素及其类似物，如从台湾的民间抗癌药百日青（*Podocarpus nakaii*）中分离得到百日青甾酮 A（ponasterone A，**77**）[11]。从中药牛膝中分离得到牛膝甾酮（inokosterone，**47**）[12]。由于中西香尔和竹本等的偶然发现，人们对植物进行广泛筛选，发现在植物中也广泛存在具有蜕皮激素活性的化合物，它们通称为植物蜕皮素（phytoecdysone）。它们在植物中一般含量很高，如露水草（*Cyanotis arachnoides*）中 β-蜕皮素的含量在 2% 以上[13]。不过人们尚未搞清植物蜕皮素的生态学意义。通过研究发现中药牛膝（*Achyranthes bidentata* BL.）的根中含有脱皮甾酮（ecdysterone，**34**），即 β-蜕皮素（β-ecdysone，**34**）；我国台湾省产的牛膝 *A. obtusifolia* Lam.、*A. rubrofusca* 和 *A. longifolia* 的极中含有脱皮甾酮和红苋甾酮（rubrosterone，**88**），后两品种牛膝中还含有牛膝甾酮（inokosterone，**47**）；自川牛膝（*Cyathula capitata*）根中分离得到川牛膝甾酮（也称杯苋甾酮，cyasterone，**14**）；桑树（*Morus alba* L.）叶中也含有牛膝甾酮和羟基蜕皮甾酮；止血消炎药白毛夏枯草（*Ajuga decumbens* Thunb.）中含有筋骨草甾酮 G（ajugasterone G）；中药泽泻醇 A（alisol A）的结构与蜕皮激素类极相似。Horn 发现 116 种植物具有蜕皮激素的活性，还测定了 40 多个蜕皮激素的化学结构[14, 15]。到目前为止，从植物中发现的蜕皮激素及其类生物已超过 100 种，它们的结构如图 7-4 所示。

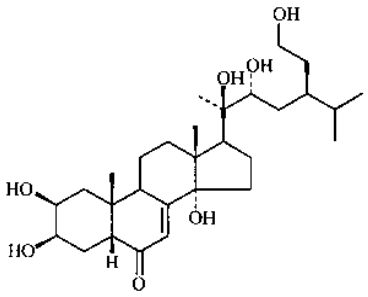




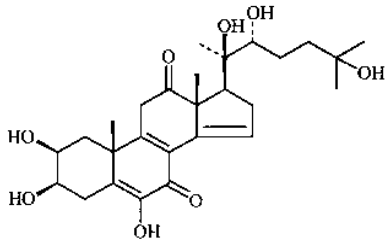
ajugasterone D (**5**)



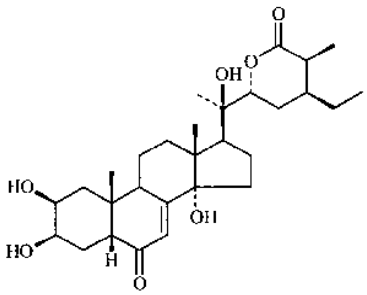
amarasterone A (**6**)



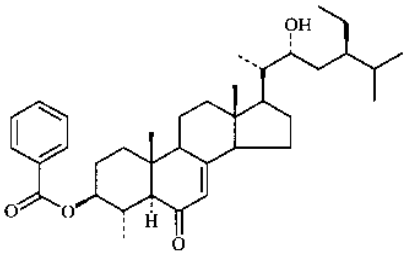
amarasterone B (**7**)



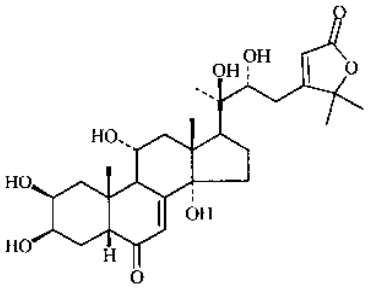
calonysterone (**8**)



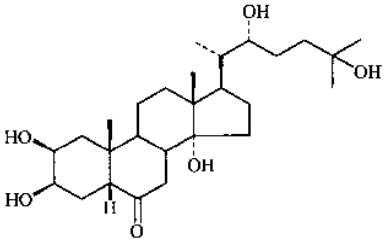
capitasterone (**9**)



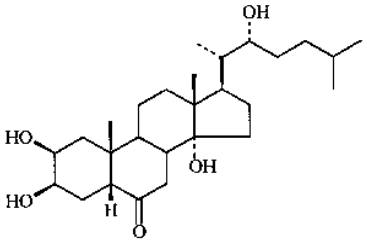
carpesterol (**10**)



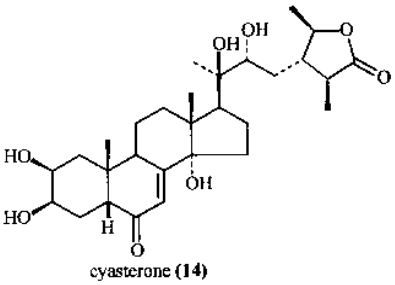
carthamosterone (**11**)



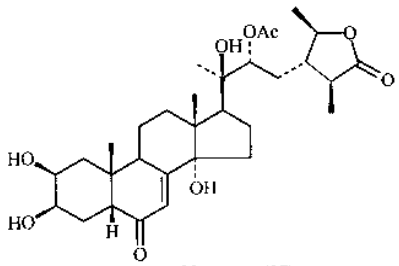
cheilanthone A (**12**)



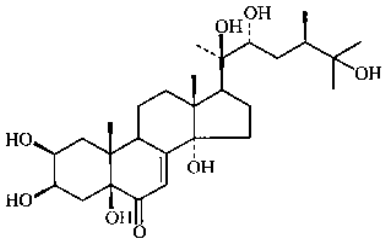
cheilanthone B (**13**)



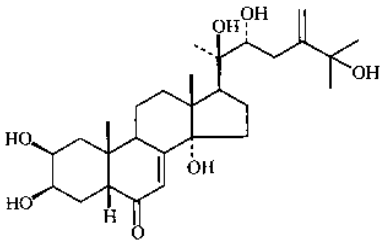
cyasterone (**14**)



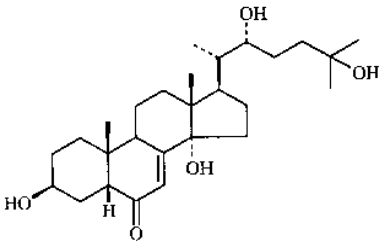
cyasterone-22-acetate (**15**)



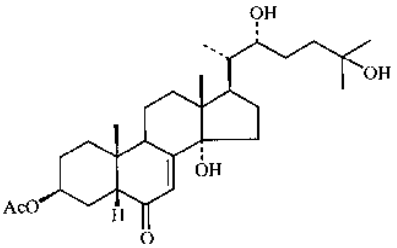
dacrysterone (**16**)



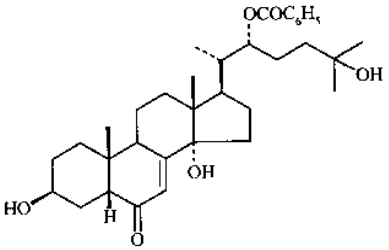
24(28)-dehydromakisterone A (**17**)



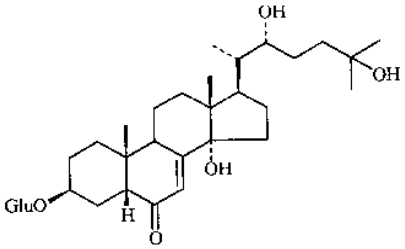
2-deoxyecdysone (**18**)



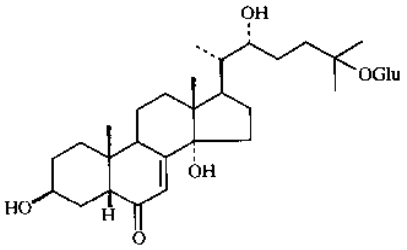
2-deoxyecdysone-3-acetate (**19**)



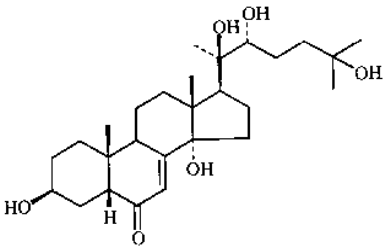
2-deoxyecdysone-22-*O*-benzoate (**20**)



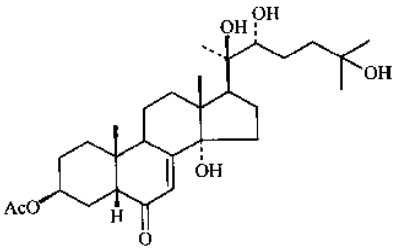
2-deoxyecdysone-3-*O*-*β*-glucopyranoside (**21**)



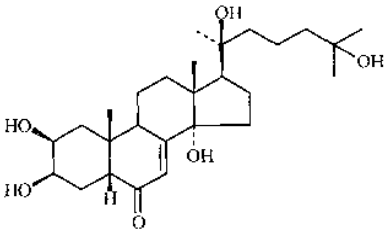
2-deoxyecdysone-25-*O*-*β*-glucopyranoside (**22**)



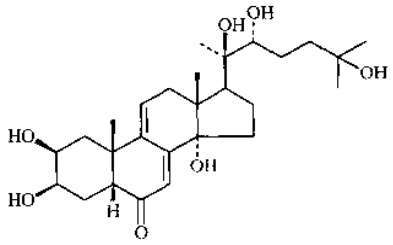
2-deoxy-20-hydroxyecdysone (**23**)



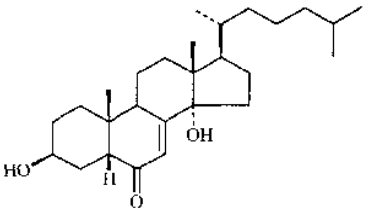
2-deoxy-20-hydroxyecdysone-3-acetate (**24**)



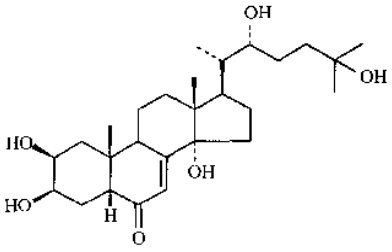
22-deoxy-20-hydroxyecdysone **(25)**



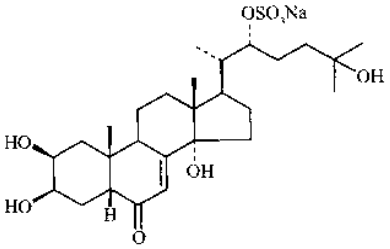
5-deoxykatadasterone **(26)**



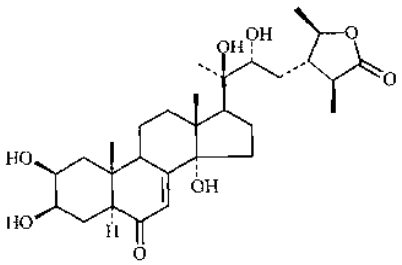
deoxyviperidone **(27)**



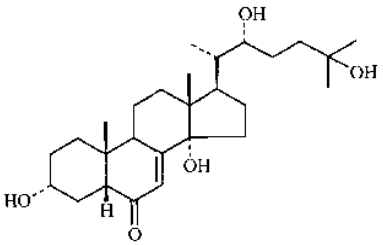
ecdysone (α-ecdysone **28**)



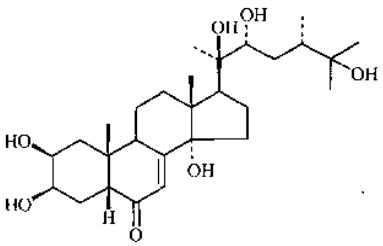
ecdysone-22-sulfate **(29)**



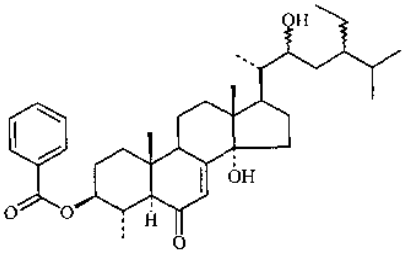
epicyasterone **(30)**



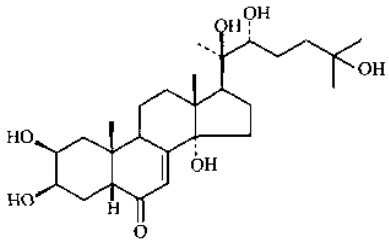
3-*epi*-2-deoxyecdysone **(31)**



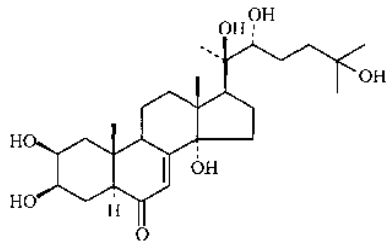
24-epimakisterone A **(32)**



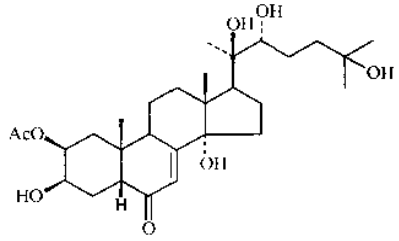
14α-hydroxycarpesterol **(33)**



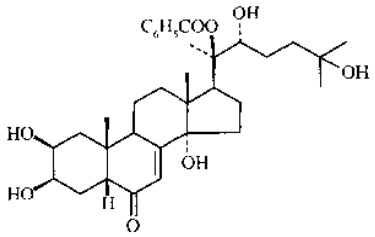
20-hydroxyecdysone (β-ecdysone **34**)



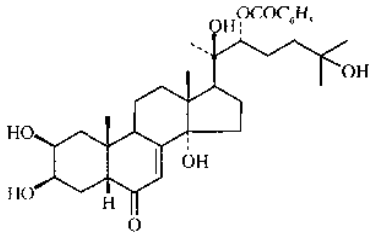
20-hydroxy-5α-ecdysone **(35)**



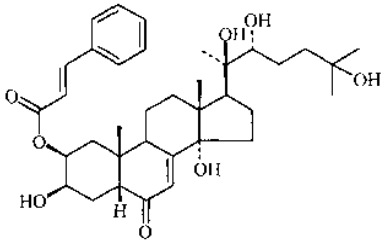
20-hydroxyecdysone-2-acetate **(36)**



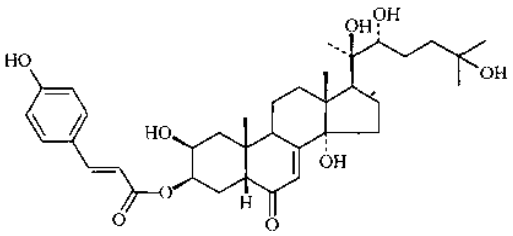
20-hydroxyecdysone-20-*O*-benzoate **(37)**



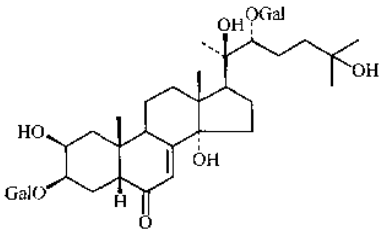
20-hydroxyecdysone-22-*O*-benzoate **(38)**



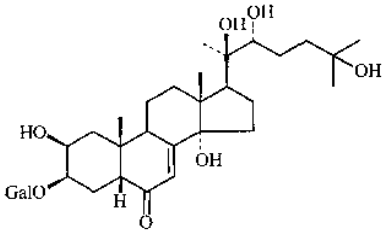
20-hydroxyecdysone-2-cinnamate **(39)**



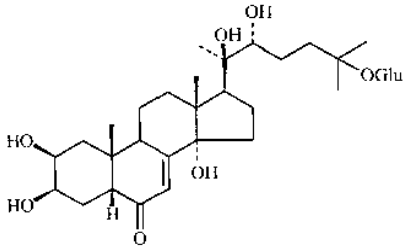
20-hydroxyecdysone-3-*p*-coumarate **(40)**



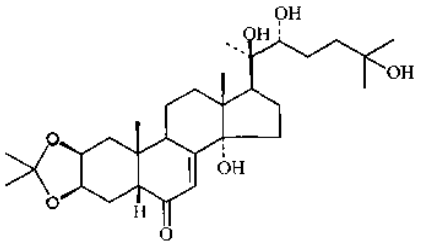
20-hydroxyecdysone-3,22-*O*-α-D-digalactopyranoside **(41)**



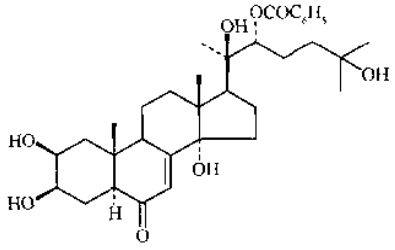
20-hydroxyecdysone-3-*O*-α-digalactopyranoside **(42)**



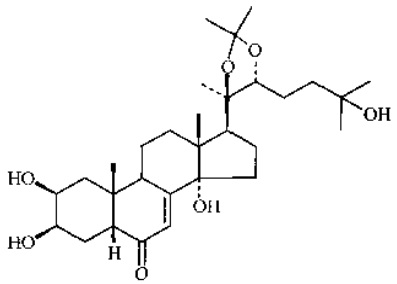
20-hydroxyecdysone-25-*O*-β-glucopyranoside **(43)**



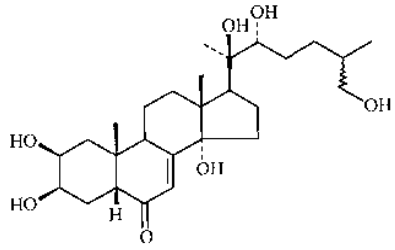
20-hydroxyecdysone-2,3-acetonide **(44)**



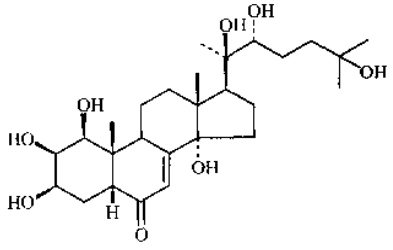
20-hydroxy-5α-ecdysone-22-*O*-benzoate (**45**)



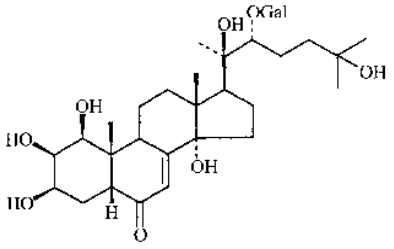
20-hydroxy-5α-ecdysone-20,22-acetonide (**46**)



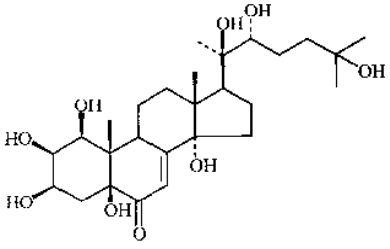
inokosterone (**47**)



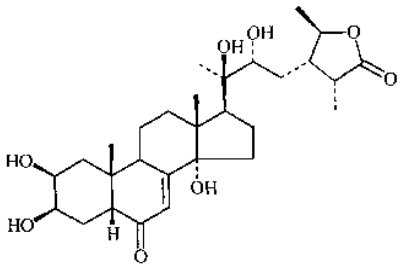
integristerone A (**48**)



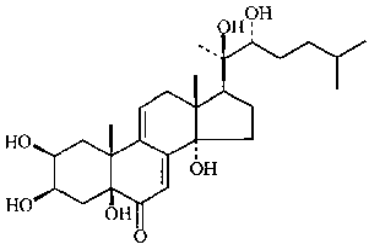
integristerone A-22-*O*-α-D-galactopyranoside (**49**)



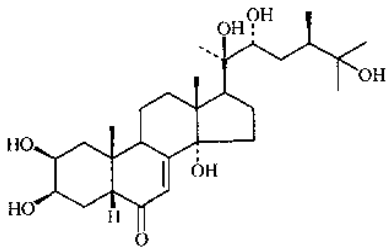
integristerone B (**50**)



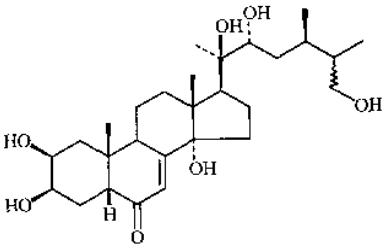
isocyasterone (**51**)



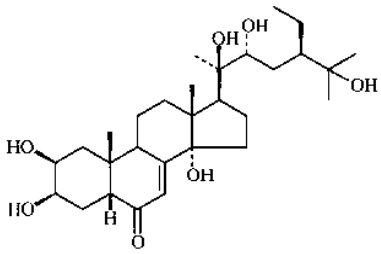
kaladasterone (**52**)



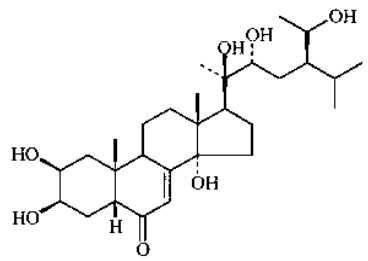
makisterone A (calliinecdysone B,podecdysone **53**)



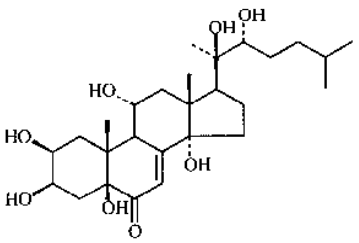
makisterone B (**54**)



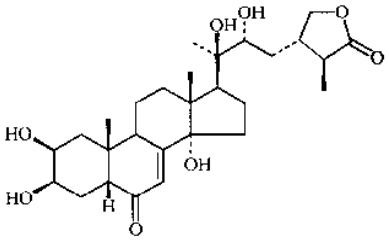
makisterone C (lemmosterone,podecdysone A **55**)



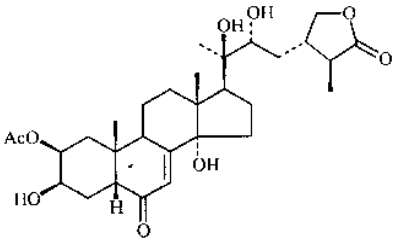
makisterone D (**56**)



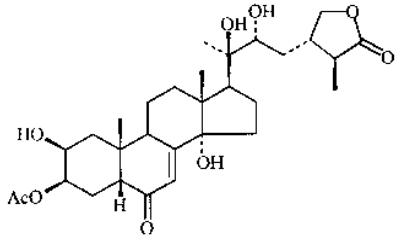
muristerone A (**57**)



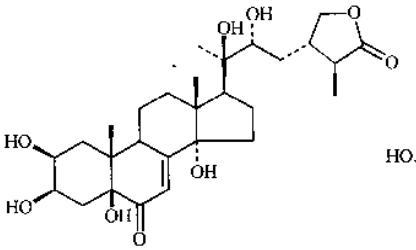
29-norcyasterone (**58**)



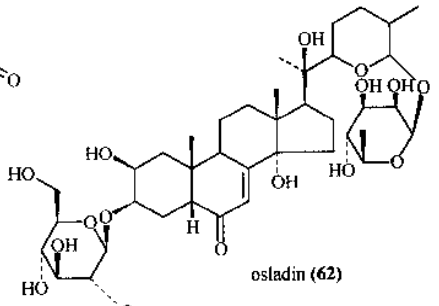
29-norcyasterone-2-acetate (**59**)



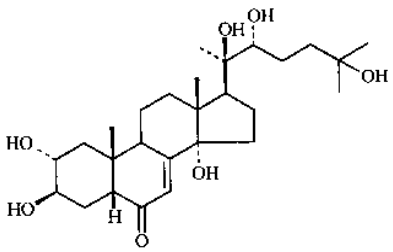
29-norcyasterone-3-acetate (**60**)



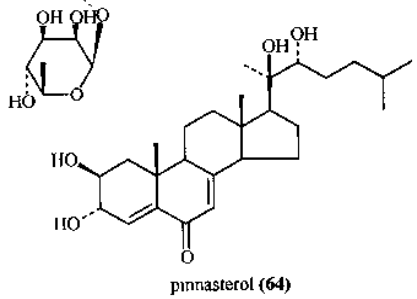
29-norsengosterone (**61**)



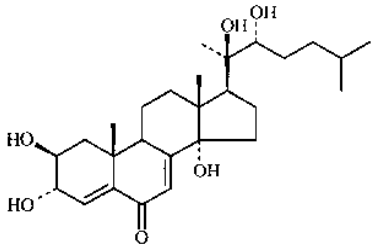
osladin (**62**)



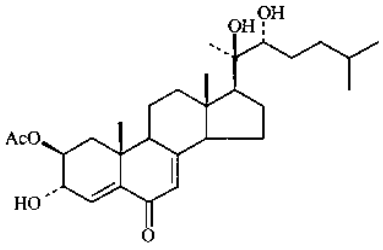
paristerone (**63**)



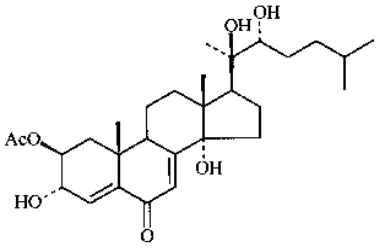
pinnasterol (**64**)



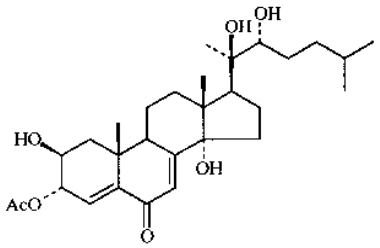
14α-hydroxypinnasterol **(65)**



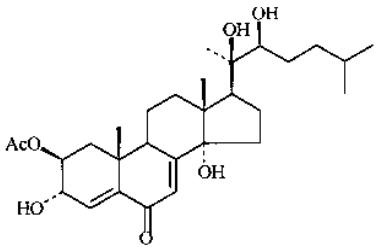
pinnasterol-2-acetate **(66)**



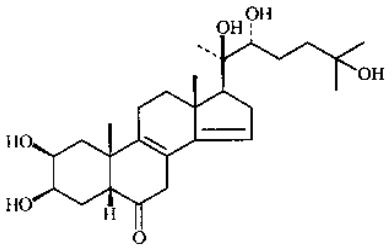
14α-hydroxypinnasterol-2-acetate **(67)**



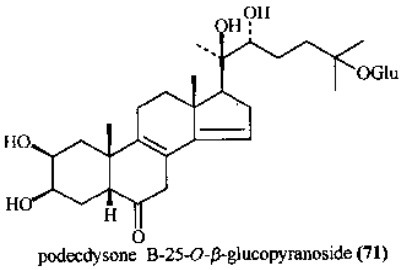
14α-hydroxypinnasterol-3-acetate **(68)**



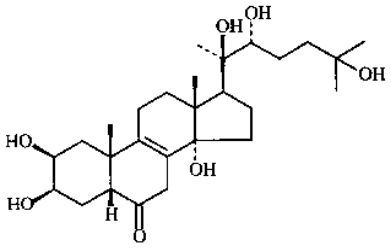
22-epi-14α-hydroxypinnasterol-2-acetate **(69)**



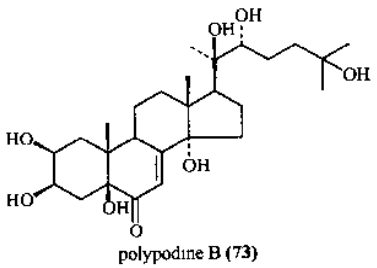
podecdysone B **(70)**



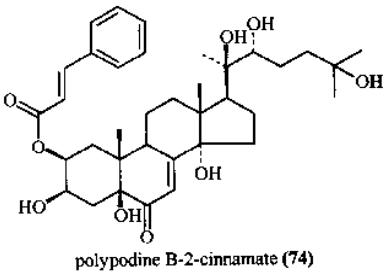
podecdysone B-25-*O*-β-glucopyranoside **(71)**



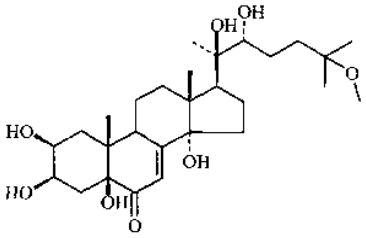
podecdysone C **(72)**



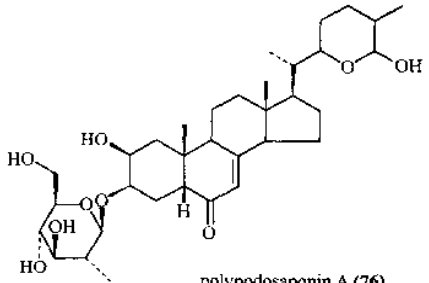
polypodine B **(73)**



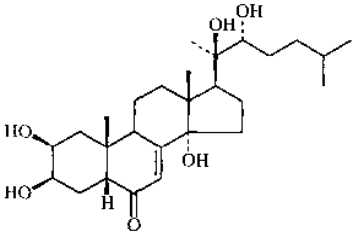
polypodine B-2-cinnamate **(74)**



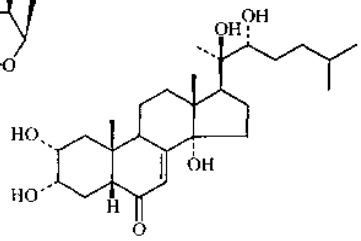
polypodoaurein (75)



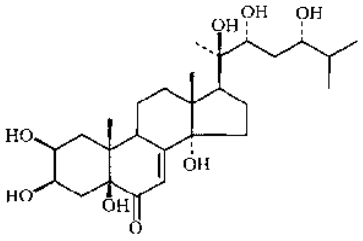
polypodosaponin A (76)



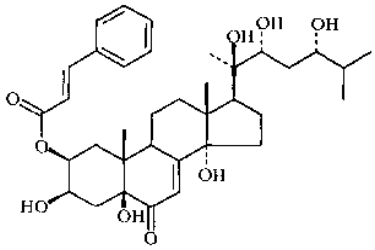
ponasterone A (77)



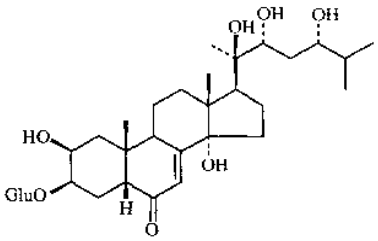
ponasterone B (78)



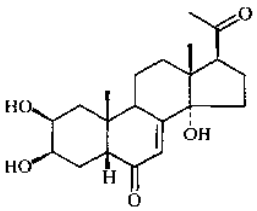
ponasterone C (79)



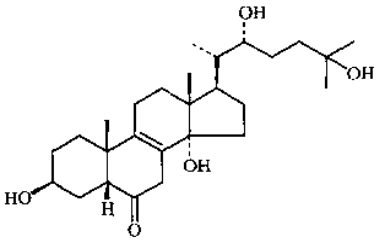
ponasterone C-2-cinnamate (80)



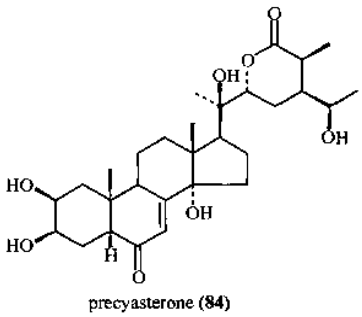
ponasteroside A (81)



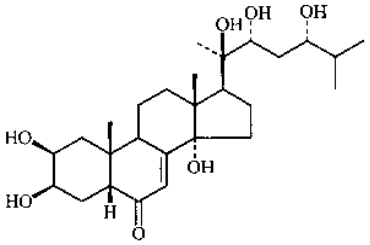
poststerone (82)

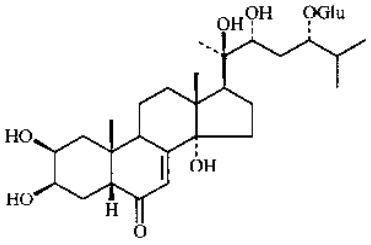


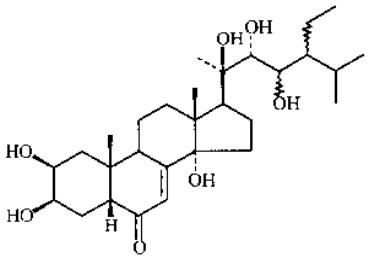
praemiximisterone (83)

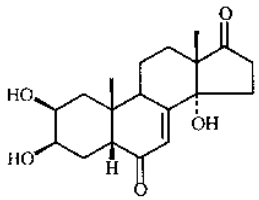


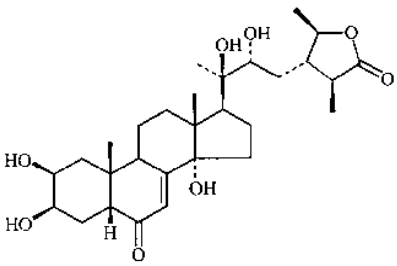
precyasterone (84)

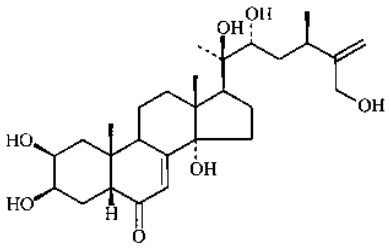

pterosterone (**85**)

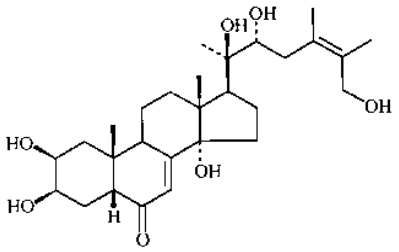

pterosterone-24-*O*-*β*-glucopyranoside (**86**)

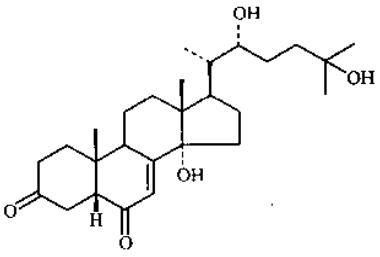

rapisterone (**87**)

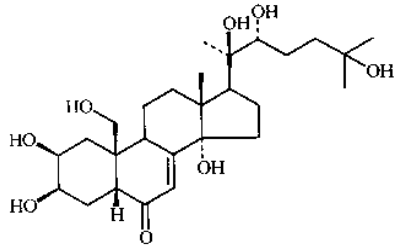

rubrosterone (**88**)

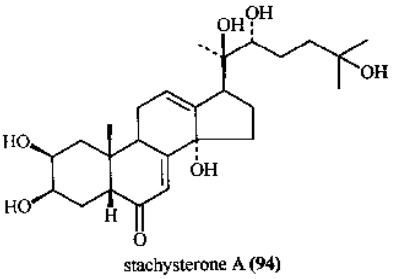

sengosterone (**89**)

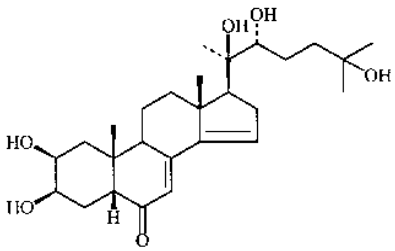

sidasterone A (**90**)

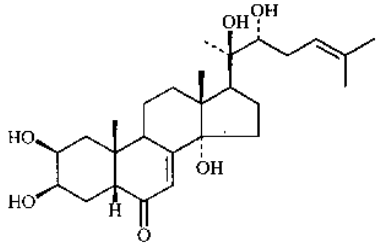

sidasterone B (**91**)

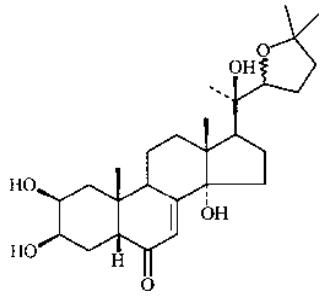

silenosterone (**92**)

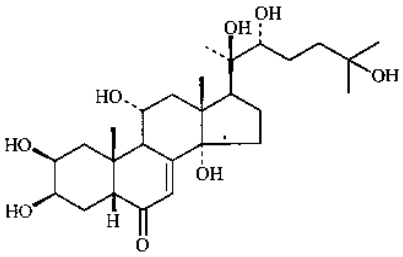

sogdysterone (**93**)

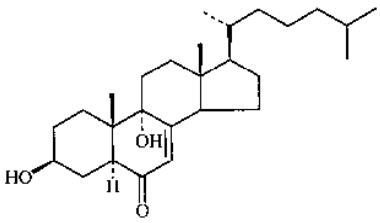

stachysterone A (**94**)

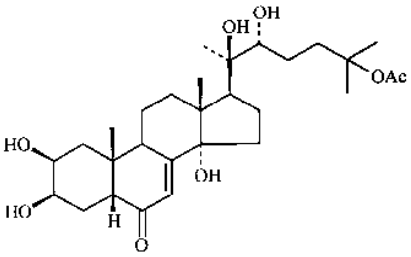

stachysterone B (95)

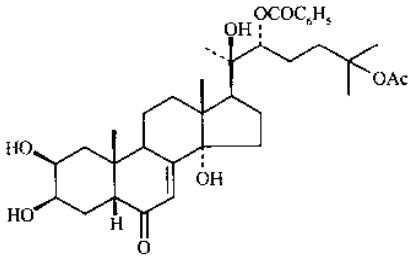

stachysterone C (96)


stachysterone D (shidasterone 97)


turkesterone (98)


viperidone (99)


viticosterone E (100)


viticosterone E-22-*O*-bezoate (101)

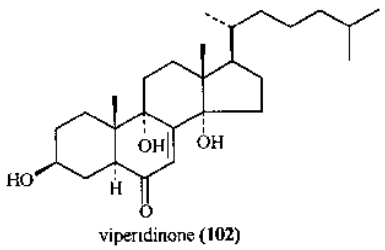

viperidinone (102)

图 7-4

值得注意的是，昆虫的发育和生长可被很微量的蜕皮激素控制（百万分之一浓度，即 1 μg/g），而植物中的蜕皮激素含量远远高于此（占其干物质重的 0.1%）。显然，许多昆虫对其食用植物的蜕皮激素产生了解毒机制，因此，保幼激素和蜕皮激素在农作物害虫防治中还难以像上述昆虫行为信息素那样实用。

三、抗蜕皮激素

植物中除了含有蜕皮激素以外，还含有抗蜕皮激素（anti-ecdysterone），其自身无蜕皮激素活性，而对某些蜕皮激素有拮抗作用。如果含量高的话，可用于杀虫，将有实用价值。例如，从唇形科筋骨草（*Ajuga*

decumbens)中分出一系列抗蜕皮激素,如筋骨草内酯(ajugalactone,**2**)[16],其结构与蜕皮素十分相似,差别主要在于侧链不同,它没有蜕皮激素活性,能抑制百日青甾酮 A(**77**)的作用,但不能抑制 β-蜕皮素(**34**)及川牛膝甾酮(cyasterone,**14**)的作用。

四、蜕皮激素的生物合成、代谢及转化

蜕皮激素在昆虫和植物中生物合成途径尚未完全研究清楚。早期研究表明,在植物体内,放射性标记的胆甾醇,以及像乙酸盐、甲瓦龙酸等生物合成前体可以转化成 β-蜕皮素,α-蜕皮素转化为 β-蜕皮素。节肢动物幼虫阶段蜕皮激素的生物合成发生在特殊的"蜕皮腺体"中,如蝗虫的前胸腺体和双翅目昆虫的环形腺体中。其他一些组织也能像蜕皮腺一样合成蜕皮激素,如雌性成虫可以在卵巢中合成,某些昆虫的睾丸也是蜕皮激素的重要来源。一般来说,昆虫不能从乙酸盐等小分子合成甾体,所以必须依赖于从食物中获得甾醇,再在昆虫体内转化为蜕皮激素。食肉昆虫可从食物中获得胆甾醇,而食草昆虫从食物中获得的是植物甾醇,如 β-谷甾醇(β-sitosterol, **103**),必须首先在昆虫体内转化为胆甾醇(cholesterol,**104**)。整个生物合成过程极为复杂。从 β-谷甾醇转化为胆甾醇的主要步骤[17]:在 24,28 位上脱氢生成岩藻甾醇(fucosterol)及异岩藻甾醇(isofucosterol),岩藻甾醇再转化成 24,28-环氧化物;它们脱去侧链生成 24, 25-脱氢胆甾醇,再转化成胆甾醇。实际过程远比此复杂,不同昆虫中的上述转化过程也有所不同。

从胆甾醇转化为 2-去羟基蜕皮素的主要过程如图 7-5 所示。

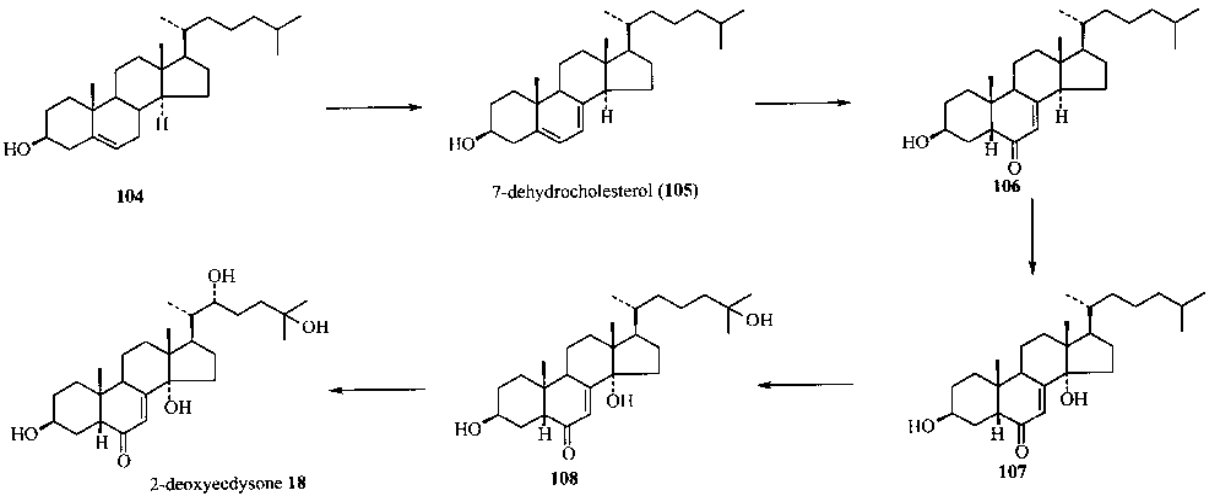
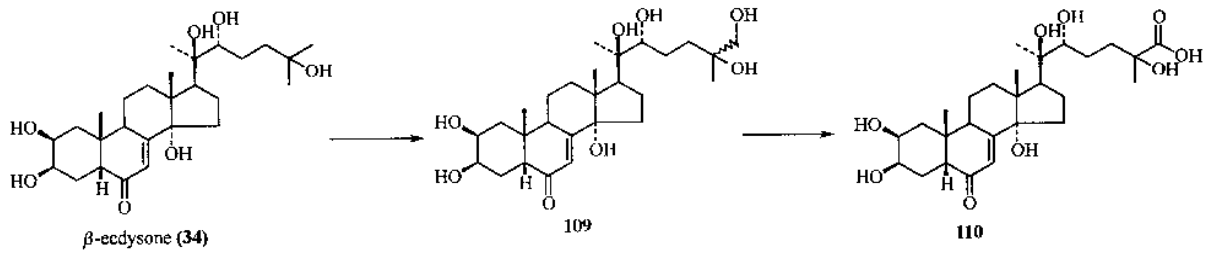


图 7-5

现在已经搞清 α-蜕皮素是没有活性的,它在体内转化成活性成分 β-蜕皮素而起作用[18, 19]。我们对植物蜕皮激素的代谢途径仍知道得很少;对蜕皮激素在昆虫体内的代谢研究,特别是蜕皮素的代谢过程,已进行了很多探索[20~24]。这些研究表明,在不同种类、发育阶段和组织中的代谢途径也不尽相同。代谢可发生在支链及甾体母核上;一般来说,蜕皮素可以很快地被氧化成 20-羟基蜕皮素。进一步的代谢可发生在支链的 C-26 的羟基上,并进一步氧化形成蜕皮酸(ecdysonoic acid,**110**),而新形成的 26 位羟基也可与磷酸根结合成磷酸酯。C-22 位的羟基能与长链脂肪酸、磷酸盐结合,而形成乙酸酯、葡萄糖苷和葡萄糖酸苷的现象却很少发生。支链 C-20 和 C-22 间的支链断裂也会发生。甾体母核的代谢反应,其中一些是可逆的,如 3 位脱氢产物及形成相应的 3 位差向异构体,C-2、C-3 位的乙酸酯和磷酸酯也被鉴定。

一些结合的蜕皮激素被认为是其在昆虫体内的储存形式,如新产卵中就含有大量的结合蜕皮激素。



β-ecdysone (34)　　109　　110

五、昆虫变态激素的提取分离和结构鉴定

1. 分离提取

昆虫变态激素在昆虫体内含量极微，一般采用有机溶剂提取，然后用逆流分配法加以纯化。

自植物体中提取昆虫变态激素，多用甲醇为溶剂，得甲醇提取物转溶于水中，以乙醚除去脂溶性成分，再以乙酸乙酯反复萃取，合并乙酸乙酯萃取液。蒸去乙酸乙酯后的残留物，有时加少量乙酸乙酯即可析出粗品，如自怀牛膝(*A. bidentata* BL.)的根中提取牛膝甾酮就是用这个方法获得。乙酸乙酯提取后不能得到结晶时，往往用氧化铝层析法可以获得纯品，如台湾产牛膝(*A. obtusifolia* Lam.)的根中分离羟基蜕皮甾酮即用此法。

2. 结构鉴定

昆虫变态激素为一类含27～30个碳原子的甾体化合物，其结构特点是甾核的C_6是酮基，C_7有双键，C_{17}是一个含氧的功能基侧链，此外，分子中还有许多羟基，因此在水中的溶解度较大，这点不同于一般甾醇。具有变态活性的昆虫变态激素的A/B环大多是顺式，A/B环为反式的则无活性或活性减弱。

(1) 紫外光谱(UV)

7-烯-6-酮型蜕皮激素具有很强的特征紫外吸收峰，λ_{max} 242 nm，摩尔吸光系数 ε 在 10 000～16 000 mol/(L·cm)。蜕皮酮乙醇溶液，λ_{max} 242 nm 的 ε 为 12 400 mol/(L·cm)，14α-羟基的引入，可使吸收峰红移至 248 nm；酸催化下脱 14α-羟基产物在 λ_{max} 244nm 和 293 nm 有吸收峰。

(2) 红外光谱(IR)

由于蜕皮激素含有多个羟基，在 3340～3500 cm^{-1}间有强吸收，α，β-不饱和酮在 1640～1670 cm^{-1}区间有特征吸收峰(5β-羟基蜕皮酮类可移至 1690 cm^{-1})，1650 cm^{-1}和 1605 cm^{-1}有弱的双键吸收，一些含内酯基团的蜕皮激素在 1700～1800 cm^{-1}间有吸收峰。

(3) 旋光谱(ORD)和圆二色谱(CD)

因为蜕皮激素分子的B环中含有 α，β-不饱和酮基，其旋光谱显示两个 Cotton 效应，在二氧六环溶液中测定，其正 Cotton 效应在 40°～80°间；这对确定 A/B 环的接合方式十分有用，40°～80°是顺式接合的特征值；5α-H 衍生物显示更强的 Cotton 效应，如 5α-H-20-羟基蜕皮酮，显示负 Cotton 效应，α_{240} −475°。C-7 位失去双键后，有一个在 −160°～−190°之间的负的 Cotton 效应。

圆二色谱对确定 A/B 环的接合方式也十分有效，反式接合化合物的 Cotton 效应强度要比顺式的大[25]；利用二苯甲酸酯手性规则，通过其二苯甲酸酯衍生物的 CD 谱，可确定 A 环邻二羟基的绝对构型[26,27]。

(4) 质谱(MS)

蜕皮激素的质谱对结构解析非常有价值，通过来自甾体母核及支链的特征碎片峰，结合核磁共振谱数据，可以得到足够的分子结构信息。

蜕皮激素的电轰击质谱(EI)通常只显示很弱的分子离子峰(≈1%),由于分子离子峰很容易脱水,M^+-18峰会很强,然后会进一步失水。图 7-6 是 β-蜕皮酮的质谱断裂碎片示意图。

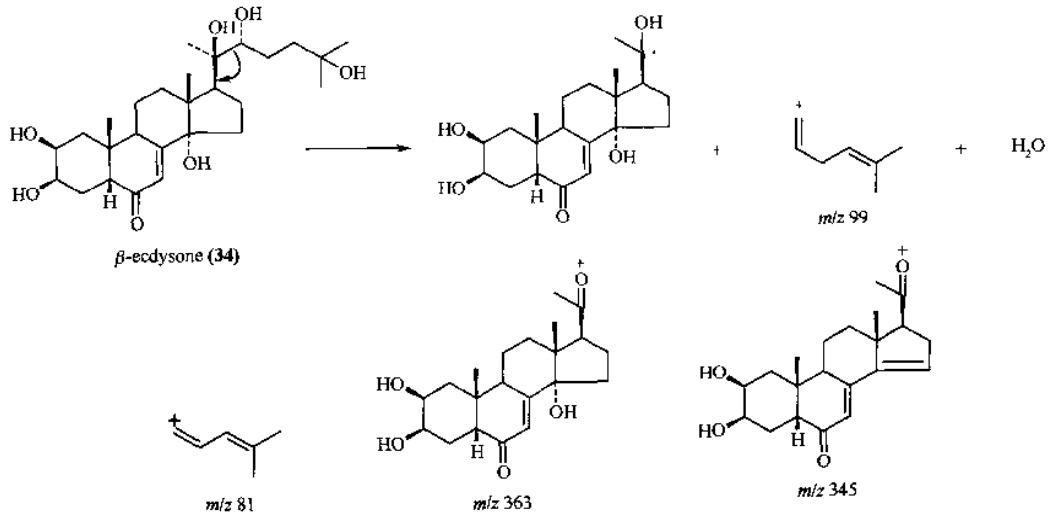


图 7-6 β-蜕皮酮的质谱断裂碎片示意图

(5) 核磁共振谱(NMR)

蜕皮激素在氯仿中的溶解性很差,早期 NMR 数据几乎都是从氘代吡啶、甲醇和二甲亚砜溶液中获得,现在由于高分辨核磁共振仪的普遍使用,对样品量的要求大大降低,蜕皮激素的 NMR 数据也可从一般溶剂的溶液中得到。

蜕皮激素的^{1}H-NMR 谱一般都比较复杂,CH 和 CH_2 信号均重叠在一起,甲基信号一般呈尖锐单峰,C_{20} 羟基化后,C_{18}和 C_{21}位甲基明显向低场移动,α-蜕皮素的 C_{18}和 C_{21}位甲基信号分别在 δ 0.7 ppm 和1.25 ppm (d, J = 6 Hz)(pyridine-d_5),而 β-蜕皮素相应的甲基信号却在 δ 1.20 ppm 和 1.56 ppm,C_{20}位氢被羟基取代后,与 C_{21}位甲基的偶合消失。引入 14α-羟基对 C_{18}甲基有一个很小的低场位移效应,在 0.06～0.08 ppm 之间,同时 C_7 位质子简化为双峰信号。

蜕皮激素的^{13}C-NMR 谱相对于其^{1}H-NMR 谱更容易辨别,C_6 位的羰基在 δ 201～204 ppm 之间,C_7、C_8 不饱和双键碳信号分别在 δ 121 ppm 和 165 ppm;5β-H 衍生物中 C_5 碳信号在 δ～51 ppm,5β-OH 衍生物 C_5 碳信号在 δ 79～80 ppm;5β 位羟基化后,可使 C_6 碳信号向高场移动约 2 ppm, C_2 碳信号向低场移动 1.5～2 ppm,C_{19}碳信号向高场移动 5～6 ppm。

α-蜕皮素和 β-蜕皮素的^{1}H-NMR、^{13}C-NMR 数据列于表 7-1 中。

表 7-1 α-蜕皮素(α-ecdysone)和 β-蜕皮素(20-hydroxyecdysone)的^{1}H 和^{13}C NMR 光谱数据

δ(ppm 以 TMS 为内标)

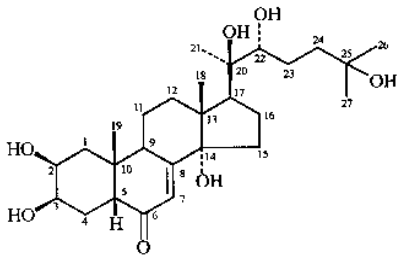
^{1}H spectra in CD_3OD at 250 MHz			^{13}C spectra in C_5D_5N at 62.9MHz		
原子	α-蜕皮素	β-蜕皮素	原子	α-蜕皮素	β-蜕皮素
1-H_a	1.43	1.43	C-1	38.08(t)	38.09(t)
1-H_e	1.78	1.78	C-2	68.10(d)	68.33(d)
2-H_a	3.83(ddd, 12.3, 3)	3.83(m, $W_{1/2}$ 22.3)	C-3	68.10(d)	68.23(d)
3-H_e	3.94(ddd, 3.3, 3)	3.94(m, $W_{1/2}$ 8.3)	C-4	32.45(t)	32.53(t)
4-H_a	1.65	1.65	C-5	51.41(d)	51.48(d)

续表

^{1}H spectra in CD_3OD at 250 MHz			^{13}C spectra in C_5D_5N at 62.9MHz		
原子	α-蜕皮素	β-蜕皮素	原子	α-蜕皮素	β-蜕皮素
4-H_e	1.75	1.75	C-6	203.36(s)	203.56(s)
5-H	2.38(dd, 12.5)	2.38(dd, 13.4)	C-7	121.61(d)	121.79(d)
7 H	5.81(d, 2.5)	5.85(d, 2.5)	C-8	165.53(s)	166.11(s)
9-H_a	3.14(m, $W_{1/2}$ 22)	3.09(m, $W_{1/2}$ 21)	C-9	34.63(d)	34.67(d)
11-H_a	1.65	1.65	C-10	38.76(s)	38.80(s)
11-H_e	1.78	1.78	C-11	21.20(t)	21.29(t)
12-H_a	2.10(ddd, 13, 13.5)	2.13(ddd, 13.1, 3.5)	C-12	31.49(t)	32.19(t)
12-H_e	1.7~1.8	1.85	C-13	47.70(s)	48.27(s)
15α-H	2.00	2.00	C-14	83.97(s)	84.42(s)
15β-H	1.53	1.55	C-15	32.03(t)	31.88(t)
16α-H	1.98[a]	1.95	C-16	26.74(t)	21.61(t)
16β-H	1.48[a]	1.75	C-17	48.28(d)	50.28(d)
17-H	2.01	2.39(m)	C-18	15.89(q)	17.99(q)
22-H	3.59(m, $W_{1/2}$ 16)	3.33(dd, 11.2)	C-19	24.55(q)	24.55(q)
23α-H	1.30	1.30	C-20	43.04(d)	77.09(s)
23β-H	1.60	1.65	C-21	13.74(q)	21.77(q)
24α-H	1.75	1.75	C-22	74.07(d)	77.75(d)
24β-H	1.45	1.45	C-23	25.69(t)	27.59(t)
18-Me	0.73(s)	0.89(s)	C-24	42.55(t)	42.64(t)
19-Me	0.97(s)	0.96(s)	C-25	69.80(s)	69.86(s)
21-Me	0.95(d, 7.5)	1.18(s)	C-26	30.09(q)	30.10(q)
26-Me	1.19(s)	1.19(s)	C-27	30.01(q)	30.15(q)
27-Me	1.20(s)	1.20(s)			

注：半峰宽 $W_{1/2}$，单位为 Hz；表中带"a"的化学位移值可以互换。

来源：Girault Lafont.



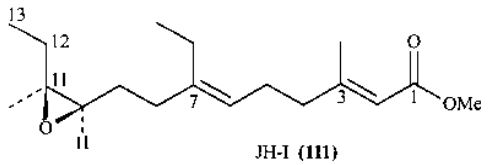
20-hydroxyecdysone (β-ecdysone,34)

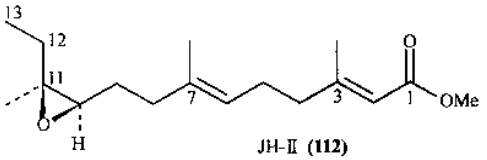
第三节 保幼激素

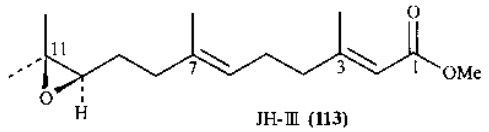
一、保幼激素的分离和结构

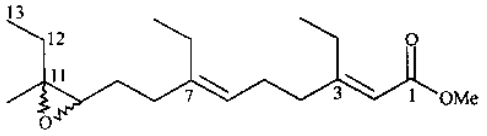
保幼激素(juvenile hormone,JH)的作用,顾名思义主要是抑制变态以维持幼虫的形态。昆虫变态过程不仅通过变态激素(MH)来调控,更因为在此过程中保幼激素(JH)的缺失。进一步研究表明保幼激素还有许多其他作用,如控制间歇期、卵蛋白的合成(蛋黄素,vitellin)、卵巢的发育、蝗虫和蚜虫的发育期,决定蜜蜂中从蜂后到工蜂的各个等级,控制信息素的产生及对其的反应等[28, 29]。保幼激素在昆虫体内的含量极低,1956 年 Williams 就用乙醚提取巨蚕(*Hyalophora cecropia*)雄成虫的腹部(每只巨蚕含 1～2μg 保幼激素,其含量是其他昆虫的 50 倍),获得具有 JH 活性的油[30]。此后,有多个研究小组从事保幼激素的分离工作,并于 1965 年获得纯品[31,32],两年后 Röller 等从获得 300μg 纯粹的 JH 中[33,34],质谱分析得分子式为 $C_{18}H_{30}O_3$;用 200μg 测定 ^{1}H-NMR 谱;20μg 做氢化,可吸收 3mol 氢分子;15μg 作 OsO_4/HIO_4 氧化得到 levulinic 醛(通过 GC 鉴别),最后确定出其化学结构,包括双键构型,但环氧基的构型未定。分子中包括甲酯部分一共有十八个碳,称之为 C_{18}-JH,又称 JH-Ⅰ(**111**)。不久又从中分得含量更低的 C_{17}-JH[35]或称 JH-Ⅱ(**112**)。

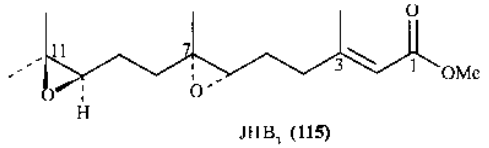
从原始的昆虫到进化程度较高的昆虫,JH 的结构变异很少。到目前为止已发现了多种 JH,除了 JH-Ⅰ和 JH-Ⅱ外,还有 JH-Ⅲ(**113**)[36]、JH-0 (**114**)[37]、JHB_3(JH-Ⅲ **115**)[38]及 4-methyl-JH-Ⅰ(**116**)[39]等。

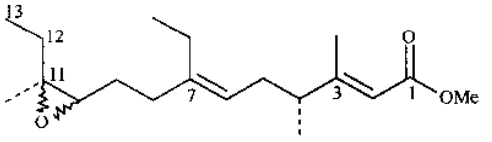

JH-I (111)


JH-Ⅱ (112)

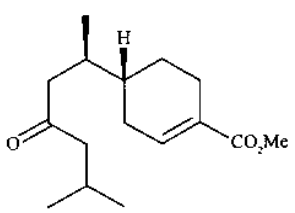

JH-Ⅲ (113)

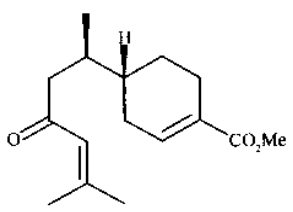

JH-0 (114)

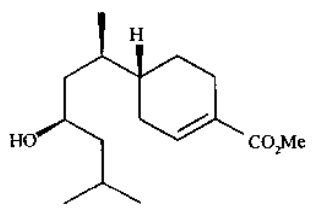

JHB_3 (115)


4-Methyl JH-I (116)

在 JH-Ⅰ结构确定之前,匈牙利的 Sláma 研究欧洲无翅红蝽(*Pyrrhocoris apterus*)的 JH。他在布拉格做实验时可以变成成虫,而在美国做实验时却变成超龄幼虫。研究其原因,发现是由美国产滤纸中某种物质所引起的,称之为纸张因素(paper factor)[40, 41]。这个纸张因素证明是滤纸原料加拿大香胶冷杉(*Abies balsamea*)中的保幼酮(juvabione,**117**)[42],为倍半萜酯类化合物;以后又得到另一个具有保幼激素活性的去氢


juvabione (117)


dehydrojuvabione (118)


119

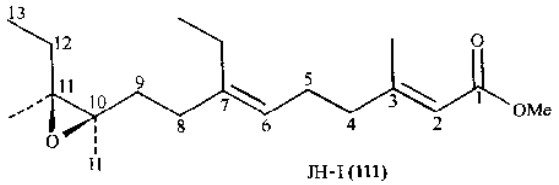
保幼酮(dehydrojuvabione,**118**)[43]。保幼生物酮或脱氢保幼生物酮等类似物还存在于枞、铁杉、紫杉、落叶松、云杉等植物中[44]。

表 7-2 是几个保幼激素的^{1}H-NMR、^{13}C-NMR 数据。

表 7-2　一些保幼激素(JH)的^{1}H-NMR 和^{13}C-NMR 化学位移值 δ (ppm 以 TMS 为内标)

碳原子	^{1}H JH-Ⅰ 400 MHz	^{1}H JH-Ⅱ 250 MHz	^{1}H JH-Ⅲ 400 MHz	^{13}C JH-Ⅰ not specified	^{13}C JH-Ⅱ not specified	^{13}C JH-Ⅲ 25 MHz	^{13}C JH-B_3 not specified
O-Me	3.61(s)	3.68(s)	3.70(s)	50.75	50.72	50.75	50.87
1	—	—	—	167.14	167.20	167.20	167.01
2	5.57(br)	5.67(m)	—	115.31	115.31	115.34	115.64
3	—	—	—	159.83	159.89	159.86	158.84
4	—	—	—	41.19	40.78	40.83	37.57[a]
5	—	—	—	33.29	36.51	36.33	35.54[a]
6	5.05(br t, 6.4)	5.14(m)	5.22(m)	122.91	123.44	123.50	63.95[b]
7	—	—	—	141.28	135.38	135.32	58.31[c]
8	—	—	—	27.26[a]	27.03[a]	27.47[a]	26.65[a]
9	—	—	—	23.17	16.03	16.03	24.71[a]
10	2.50(dd, 7.3, 5.1)	2.70(dd, 6.7, 5.7)	2.70(t, 6)	61.78	61.72	58.27	62.83[b]
11	—	—	C-12	64.65	64.53	64.09	60.56[c]
12	—	—	1.27(s)	21.59	21.59	18.75	18.76[d]
13	0.98(t, 7.8)	1.00(t, 7.5)	xxx	9.65	9.50	xxx	xxx
3-Me	2.13(d, 1.2)	2.17(d, 1.3)	2.18(d, 1.3)	25.80[e]	25.80[a]	24.86[a]	24.79
7-Et CH_3—	0.98(t, 7.8)	xxx	xxx	13.10	xxx	xxx	xxx
7-Et —CH_2—	—	—	—	25.57[e]	xxx	xxx	xxx
7-Me	xxx	1.62(s)	1.63(s)	—	25.92[a]	25.95[a]	18.63[d]
11-Me	1.16(s)	1.27(s)	1.32(s)	18.84	18.78	18.81	16.42d

注：偶合常数 J 的单位为 Hz。xxx 代表该原子的信号未出现。在同一化合物中标有相同上标字母的原子的化学位移值未能识别且可以互换。



JH-Ⅰ(111)

二、保幼激素的合成与绝对构型确定

Mayer 等用 1.37mg 的 JH 混合物(90.2mol%的 JH-Ⅰ及 9.8mol%的 JH-Ⅱ)测旋光，由于样品量少，用

钠光(589nm)无法测得$[\alpha]_D$,于是用较短波长(365nm、436nm、546nm 及 578nm)测定旋光,再用外插法求出$[\alpha]_D$为+7°($[M]_D$+21°)[45]。他们认为 JH-Ⅰ与 JH-Ⅱ的差别仅在于 7 位是乙基或是甲基,后者离不对称中心较远,不会改变其旋光的符号,即二者均应为右旋。把根据原子折射求旋光度的 Brewster 经验规则运用于环氧基,大胆的假设其绝对构型为 10*R*, 11S。JH-Ⅰ的全合成证实了它的立体化学[46, 47],Mori 和 Fujiwhara[48]从**120** 出发,利用酵母菌 *Pichia terricola* 生物转化立体选择性合成**121**,进一步合成了 JH-Ⅰ与 JH-Ⅱ,合成路线如图 7-7 所示。

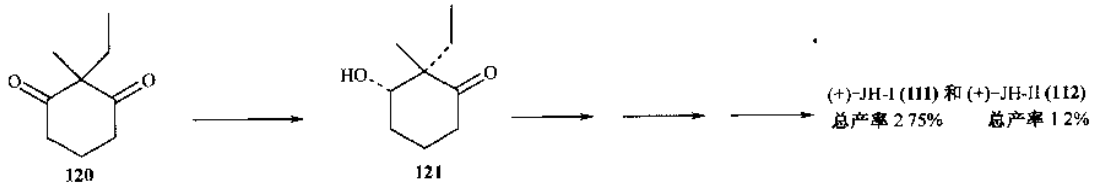


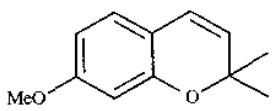
图 7-7

中西香尔等用 CD 方法决定了 JH-Ⅱ(**112**)的绝对构型[49],先将环氧基打开生成邻二醇,在正己烷中加化学位移试剂 Pr(dpm)$_3$,测得 312nm 波长得 $\Delta\varepsilon = -1.1$,从而证明其绝对构型为 10*R*, 11S。

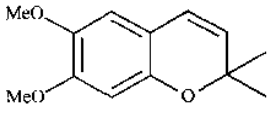
三、抗保幼激素

Bowers 认为保幼酮(**117**)可能是植物对于害虫防卫分泌的一部分。合成结构简单而保幼活性更高的化合物,可用于杀虫,如果能找到抗保幼激素,也许对植物保护是更为有效的战略。他从菊科观赏植物熊耳草(*Ageratum houstonianum*)中分离得到两个具有抗保幼激素(anti-juvenile hormone)活性的早熟烯-1 和早熟烯-2(precocene-1,**122** 和 precocene-2,**123**)[50],这两个化合物也存在在其他藿香属植物中,它们属于甲氧基色烯类化合物,可从 6-甲氧基香豆素合成[51]。将它们用于红蝽幼虫,可使之早熟,变态为成虫,而早熟的昆虫无繁殖能力,但这方面研究得不多。

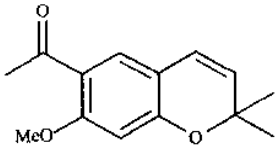
早熟烯可抑制昆虫腺体合成保幼激素,早熟烯苯并吡喃环上的双键可被对位甲氧基所活化,在保幼激素合成最后阶段,通过细胞色素 P450 多功能氧化酶进行环氧化与其永久性结合而使保幼激素失活[52]。乙酰色烯类化合物(**124**),由于不能被 P450 环氧化而不表现出抗保幼激素的活性。



122



123



124

四、保幼激素的生物合成

保幼激素 JH-Ⅲ的生物合成被认为是由常规的乙酸酯通过乙酰乙酸酯、甲瓦龙酸酯、异戊烯焦磷酸盐酯和法呢烯焦磷酸盐酯路径。额外的甲基,似乎应和甾体支链中形成的乙基基团相类似,来源于 *S*-腺苷甲硫氨酸(adenosyl methionine)。然而,利用标记的甲硫氨酸实验表明,标记物只与甲酯基团相关,这一重要发现对研究保幼激素的形成与代谢是十分有用的。应用标记的乙酸盐和丙酸盐在 *Manduca Sexta* 的咽侧体(corpara allata)中进行培养,实验表明,[1-^{14}C]丙酸盐或[2-^{14}C]丙酸盐和[2-^{14}C] 乙酸盐均以 1:3 的比例结合到保幼激素 JH-Ⅱ分子中,而丙酸盐则不结合进入 JH-Ⅲ分子中[53],[2-^{14}C]甲瓦龙酸(MVA)同样也可以结合到 JH-Ⅱ和 JH-Ⅲ分子中。更确切地,当丙酸盐代替乙酸盐,在 *Hyalophora cecropia* 的蛹中加入[1-^{14}C]丙酸盐,得到标记的 JH-Ⅰ[54],仅在 JH-Ⅰ分子的 C-7 和 C-11 获得标记。[5-^{3}H]高甲瓦龙酸(**125**)也被合成,

并表明通过高异戊烯焦磷酸盐酯(**126**)和异戊烯焦磷酸盐酯(**127**)一起嵌入 JH-Ⅱ分子中,却不嵌入 JH-Ⅲ分子[55]。整个生物合成过程如图 7-8 所示。

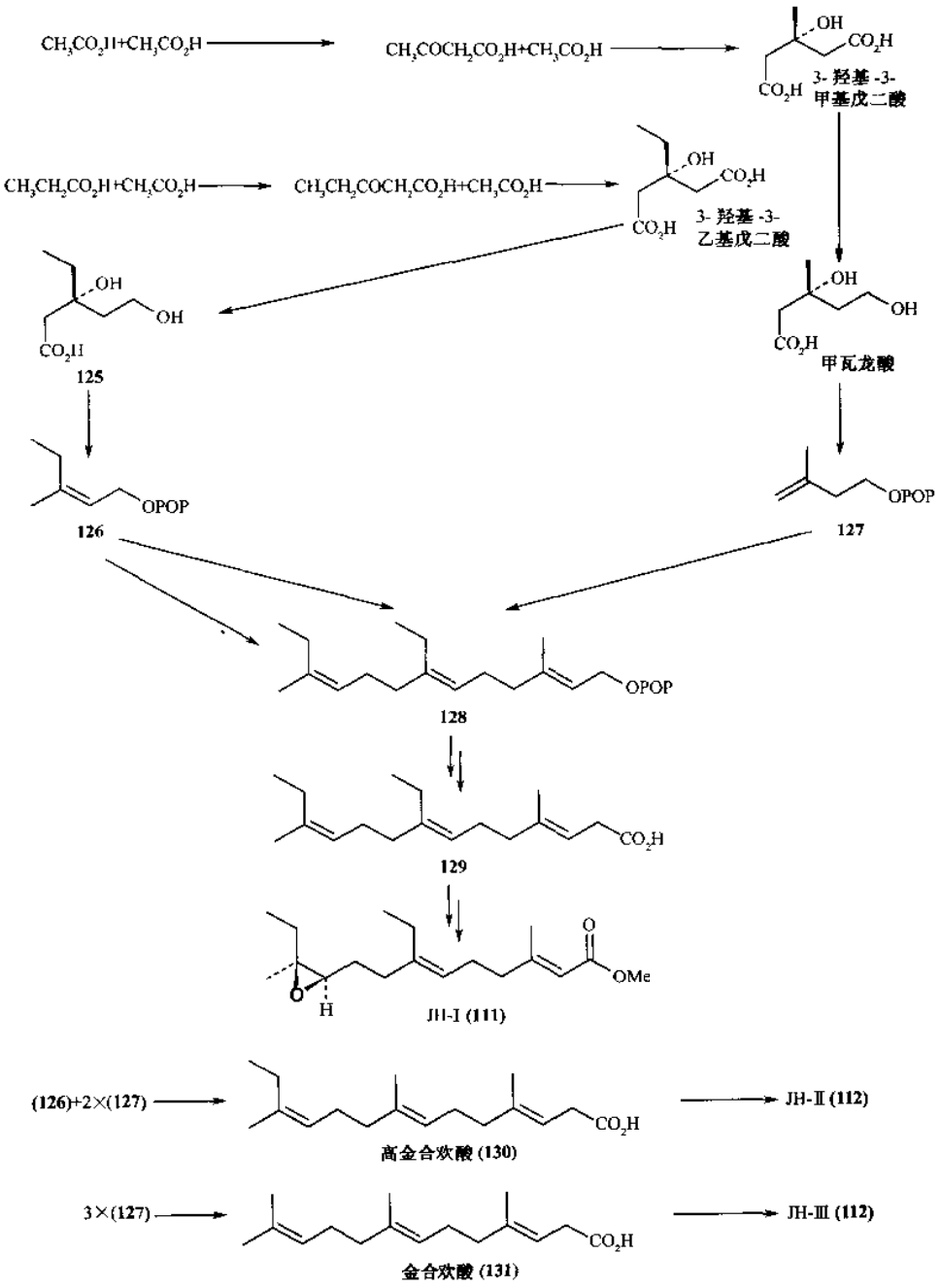


图 7-8

第四节　昆虫信息素

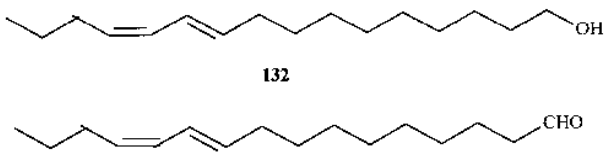
一、分离与结构测定

大多数作为信号化合物的活性成分含量都很少,要从复杂的多组分挥发性混合物中分离鉴定这些成分对有精良装备的实验室研究者来说也是一个极大的挑战,因而出现了一些研究昆虫信息素的组合技

术[56, 57]。除一些常规方法外，固相微量提取技术(solid-phase micro extraction, SPME)[58]，是收集信号化合物的极有效的方法[59~61]。由于不是所有的昆虫分泌物都具有生物活性，GC在线连接分离技术结合电极图解方法(electroantennographic method)极大地促进了对那些确实能被受体昆虫所感知的化合物的检测[62]。据瑞士的Heinrich报道，截止到20世纪90年代初，已有2258种昆虫信息素被鉴定出化学结构，涉及1068种昆虫，这些信息素中有264种为单体化合物。

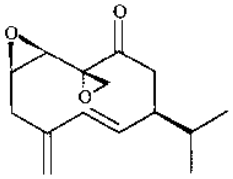
对目标化合物的检测之后，接下来就是对其进行识别鉴定。现代NMR技术提供了最重要的结构信息数据，然而，在昆虫信息素研究中有一定局限性，原因是其灵敏度相对较低，即使采用现代仪器(约1μg测定^{1}H-NMR谱、10~15μg测定C—H相关)；而且NMR分析所需样品的分离过程既困难又费时，分离过程通常涉及大批量的昆虫个体。与此相反，像GC-MS、GC-FT-IR等在线方法，以及与质谱串连的二维气相色谱技术(GC-GC, MS-MS)，具有分离的高选择性和检测的高灵敏度(仅需纳克或皮克量)的优点，但其局限性是质谱数据专一性较差，所推断的结构一般需要化学合成来证实。一些衍生化反应，特别是微量反应技术，研究衍生物的质谱裂解规律，对阐明结构特别有效[63~65]。

诺贝尔奖获得者，德国的Butenandt等经过20年的不懈努力，直到1959年发表了从50万头雌性处女蚕蛾(silkworm moth) *Bombyx mori* 中分离出12mg性信息素蚕蛾醇(bombykol, **132**)[66]，不久确定其化学结构为反-10-顺-12-十六碳烯-1-醇[67]，它是第一个发现的昆虫信息素，10~12μg的**132**即可使雄性蚕蛾兴奋。



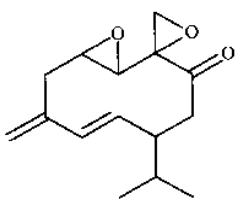
132

bombykal (**133**)

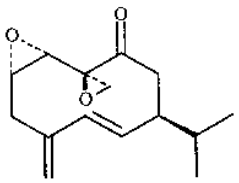


(−)-periplanone B (**134**)

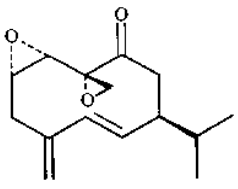
Arn等罗列了1500多种昆虫中已鉴定的昆虫性信息素[68]。昆虫中性信息素含量少，昆虫信息素的可取量很少，如研究最多的鳞翅目昆虫(Lepidopteran)，性信息素通常每头雌虫在纳克量水平，鞘翅目的聚集信息素的量稍多些，每头虫也仅含亚微克水平，要分离一定的量供结构研究十分困难，这就大大阻碍了早期对信息素的化学研究及应用研究的展开。由于科学技术的发展，各种微量分析技术及物理仪器的进步，大大推动了昆虫信息素的深入研究，目前已能用极微量的样品来测定结构。目前对于大多数鳞翅目性信息素这种简单的分子结构鉴定，所需虫量已由以前的上万头减少到数千头以至数头虫，分析周期也相应缩短。鞘翅目聚集信息素多数是具有光学活性的萜类分子。例如，美洲大蠊(*Periplameta americana*)的信息素(**135**)结构较复杂，荷兰学者从75 000只处女昆虫只分离得到20μg纯品[69]，根据MS及360MHz ^{1}H-NMR，并结合生源学说推出了结构。Still等合成了其非对映异构体[70]，并对产物进行了光学拆分[71]，证明了其[(−)-Periplanone-B, **134**]立体结构。Kitahara等以(R)-(+)-柠檬烯(limonene)为起始原料[72]，立体选择性地合成了左旋体(**134**)。结构简单的化合物用更微量样品进行研究是很普遍的，尤其是运用高场超导核磁共振仪器就更加方便了。



135



136



137

鳞翅目昆虫信息素可分为几个化学结构类型，其中大部分属于长链无支链的不饱和醇、醛、酮或乙酸酯，链长在10~18个碳之间，不饱和双键数最多可达3~4个；其合成前体为硬脂酸(十八烷酸)和棕榈酸(十六烷酸)，详细转化过程如图7-9所示。

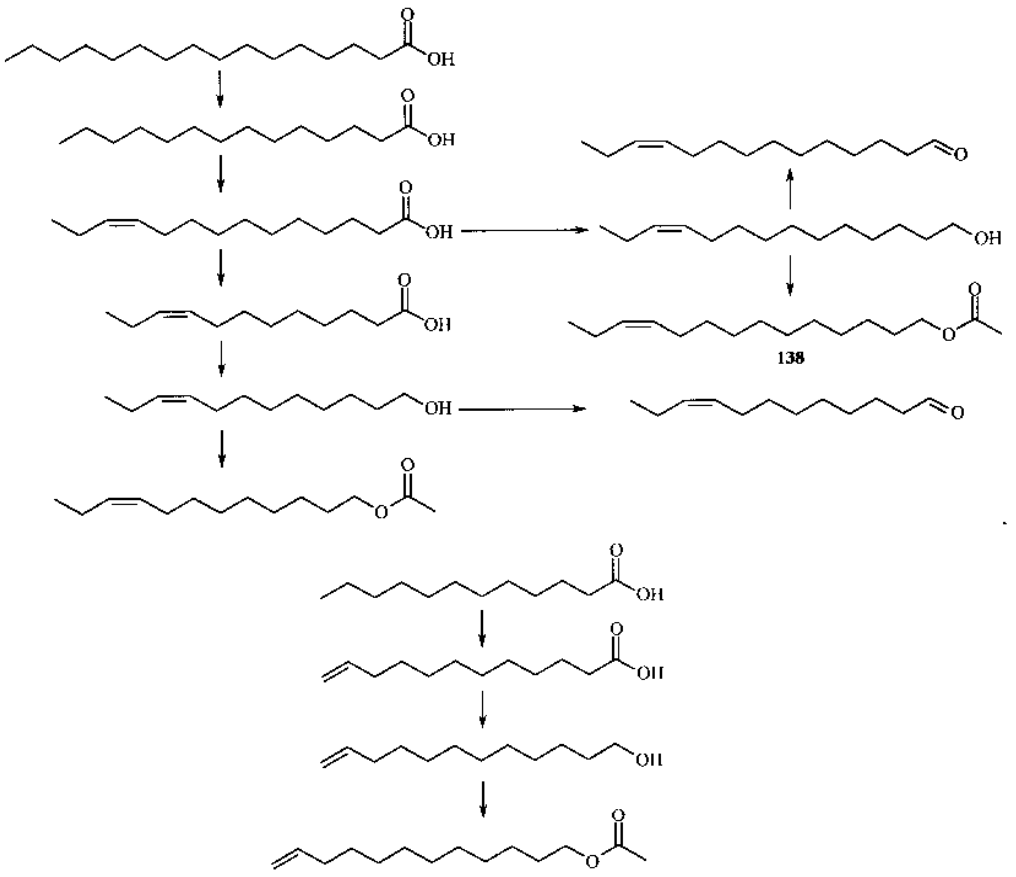
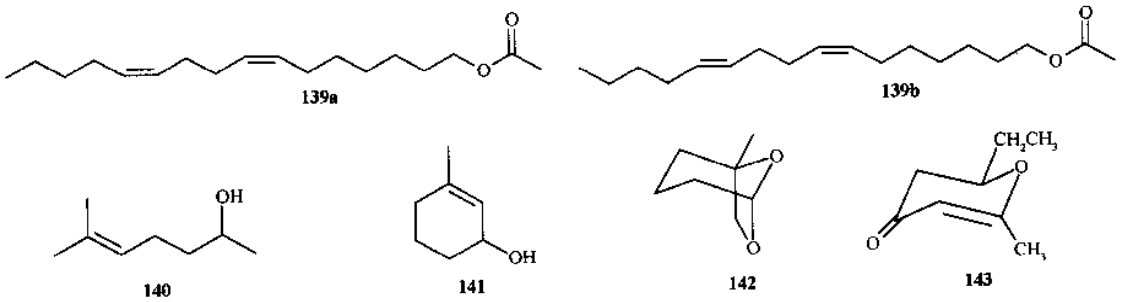


图 7-9

最具代表性的化合物是顺-11-十四碳烯乙酸酯(**138**),它是 50 多种昆虫的性信息素,可吸引 100 多种雄性昆虫个体。另外,有的昆虫不能立体专一性地合成信息素的某一种镜面体。种的特异性一般通过这些化合物的不同异构体,如通过区域异构体(positional isomer)及几何异构体(geometrical isomer)的特定配比的混合物来实现。例如,粉红螟蛉蛾(*Pectinophor gossypiella*)中的性信息素是几何异构体顺-7-顺-11-十六碳二烯乙酸酯(**139a**)及顺-7-反-11-十六碳二烯乙酸酯(**139b**)的比例为 65∶35 的混合物[73];又如蚀船虫(*Limnoria lignorum*)的信息素(sulatol,**140**),右旋体与左旋体的比例为 65∶35,seudenol (**141**),右旋体与左旋体的比例为 1∶1,frontalin (**142**)为 15∶85。许多昆虫信息素的生物合成需要生物合成神经肽(pheromone biosynthesis activating neuropeptide,PBAN)的诱导来实现[74~76]。



通常昆虫的蛾在交配时,雌虫分泌远距离性信息素来吸引雄虫,而加州蝠蛾(*Hepialus californicus*)具有相反的系统。从 70 只雄蛾后胸胫节表面上取下绒毛,立即用 CH_2Cl_2 提取,提取物在 0℃浓缩几分钟,用小

吸管硅胶柱层析，石油醚:乙醚(3:2)洗脱，得到数毫克纯的主要活性成分，称为蝠蛾酮(hepialone，**143**)。取40μg 做 400 MHz ^{1}H-NMR，其中 H-3_{eq}与 H-5 为 W 型偶合。CH_3-7 与 H-5 有丙烯偶合，结合^{13}C-NMR 数据，推测其结构为**143**。乙基为横键，因为 H-2 与 H-3_{ax}的偶合为 12.0 Hz。此结构由合成进一步证实。

143 的 CD 在 261 nm($\Delta\varepsilon$ +2.15，$\pi\rightarrow\pi^*$)及 312 nm($\Delta\varepsilon$ +0.89，$n\rightarrow\pi^*$)有两个正的 Cotton 效应，按有关的规律，2 位的绝对构型应为 R[77]。

图 7-10 是一些典型的飞蛾类昆虫信息素的结构。

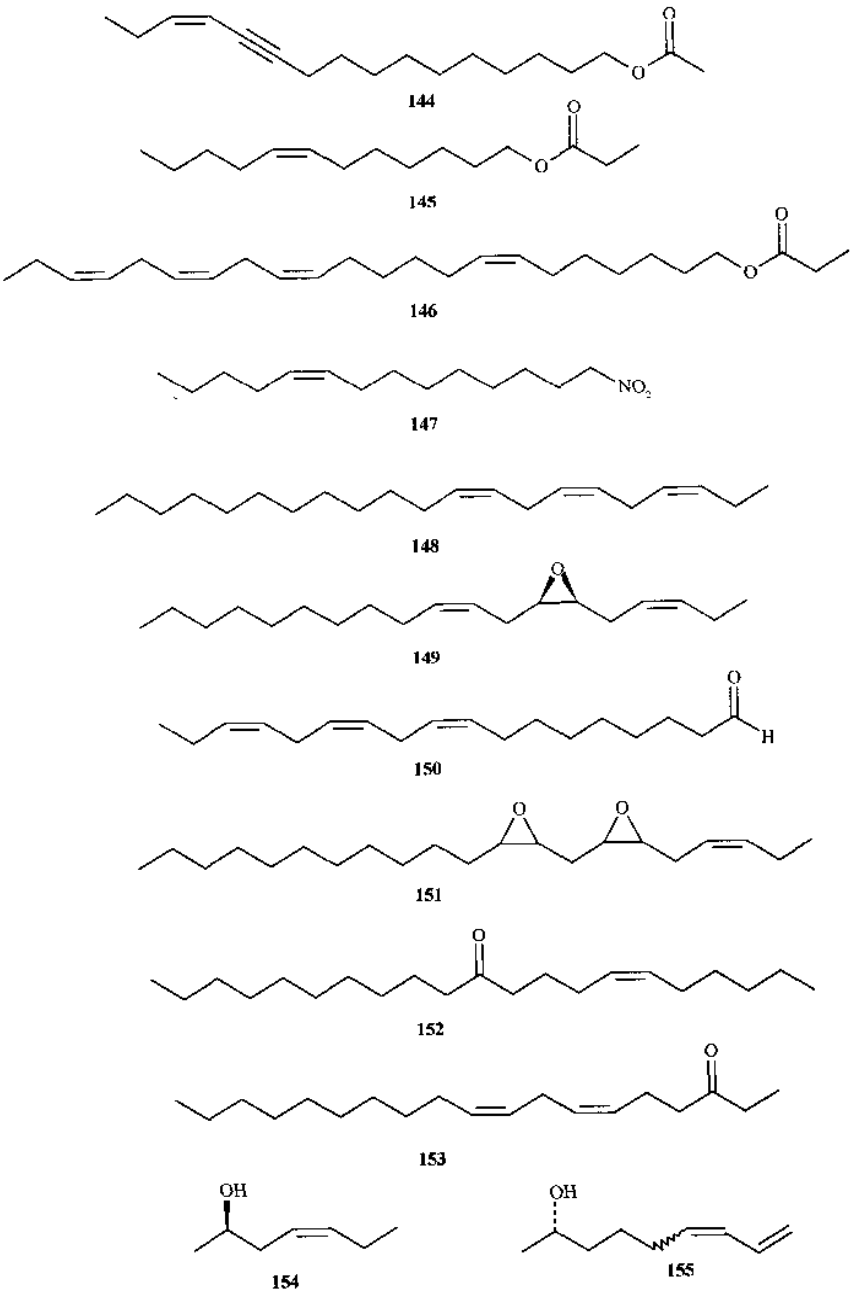
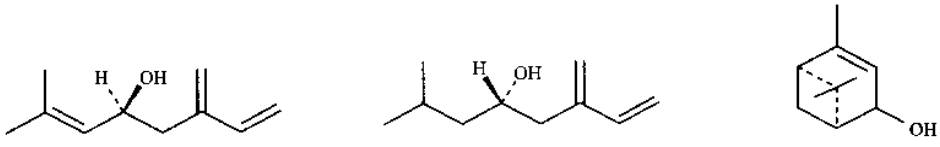


图 7-10 一些典型的飞蛾类昆虫信息素的结构

由于动物进化，信息素逐步由单一成分发展成多种成分，以便传递更多信息，如蚕蛾的性信息素实际上是蚕蛾醇与蚕蛾醛(bombykal，**133**)的92.8:7.2的混合物[78]。1966年，Silverstein发现齿小蠹(*Ips para-*

comfusus)的集合信息素中含有三种成分:小蠹二烯醇(ipsdienol,**156**)、小蠹烯醇(ipsenol,**157**)及(S)-顺马鞭烯醇[(S)-*cis*-verbenol,**158**]。野外试验表明单体的作用很弱。以后发现了大量的这类例子(图 7-11)。



ipsdienol (**156**)　　ipsenol (**157**)　　*S*-*cis*-verbenol (**158**)

图 7-11

除上述的直链脂肪族昆虫信息素外,像一些支链脂肪族、甾体、萜类、高萜类(homoterpene)及从丙酸酯 C_3 单元(propanoate)衍生的一些化合物也都可作为昆虫信息素。

二、昆虫信息素光学纯度测定

昆虫信息素含量极低,用一般方法难以测定它们的光学活性,而且立体选择性合成昆虫信息素,同样也需要测定其光学纯度。有关光学纯度测定方法的综述也很多[56, 79~82]。

Silverstein 报道了一种超微量光学纯度测定方法[83, 84]。如果信息素是醇,只要 50~200μg 样品,将它转变成 *R*-(+)或 *S*-(−)-α-甲氧基-α-三氟甲基苯基乙酸(α-methoxy-α-trifluoro-methylphenyl acetic acid, MTPA)酯。试剂的制备方法见文献[85]。然后测定其^{1}H-NMR,就可以决定其光学纯度,也可用毛细管气相色谱将酯分离而定量。

三、信息素立体化学与生物活性的关系

有的昆虫对性信息素的立体化学要求专一,有的信息素的对映体有增效作用,有的有抑制作用,而有的昆虫对它的手性的信息素的立体化学要求不严格。信息素的活性与立体异构之间大致可归纳为如下四种关系:

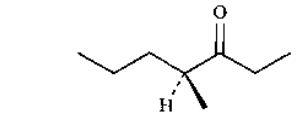
1) 有的昆虫的信息素受体能识别光学异构体,没有活性的镜面体不阻碍活性镜面体的信息素作用。如德州切叶蚁 *Atta texana* 的告警信息素为(*S*)-(+)-4-甲基-3-庚酮(**159**)[86]。又如 Cross 分出肾斑皮蠹(*Trogoderma inclusum*)及皮蠹(*T. variable*)的雌虫分泌的信息素为(*R*,*Z*)-14-甲基十六烯-8-醇[(*R*,*Z*)-14-methylhexadec-8 enol,**160**]及 *S*-体(**161**)[87]。Mori 等合成了二者[88],试验了它们的活性,证明 *R*-(−)-体的活性比 *S*-(+)-体高 250 倍。

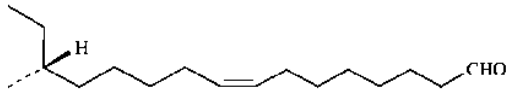
2) 有的昆虫信息素,没有活性的镜面体阻碍活性镜面体的作用。例如,雌性的盗毒蛾(*Porthetria dispar*)只在无(7*S*,8*R*)-(−)disparulure (**162**)时,对纯的性信息素(7*R*,8*S*)-(+)-disparulure (**162**)起反应[89~91],粗齿小蠹(*Ips calligraphus*)对它的集合信息素**156** 及 **157** 的反应受 *R*-顺马鞭烯醇的抑制[92]。日本弧(*Popilla japonica*)雌性性信息素为 *R*, *Z*-(**163**)。Tumlinson 等合成了消旋的 *Z* 异构体,但无活性,又分别合成了 *R*,*Z* 异构体及 *S*, *Z*-体。生物试验表明 *R*, *Z*-体与天物具有相同的活性,而少量的 *S*, *Z*-体强烈抑制雄虫反应[93]。

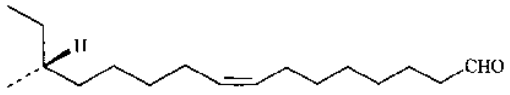
3) 有的信息素两种光学异构体均有活性,如(1*R*,2*S*)-(+)-grandisol (**164**)为雄性墨西哥棉铃象(*Anthonomus grandis*)的四个性信息素之一,但合成的对映体(−)-grandisol (**165**)具有与(+)-体相同的生理活性[94]。

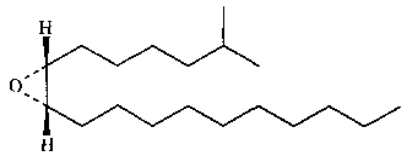
有的同属不同种的昆虫对不同镜面体产生反应,如甲虫(*Ips paraconfusus*)对(*S*)-(+)-小蠹二烯醇(**156**)起反应,而 *I. calligraphus* 对(*R*)-(−)体起反应。

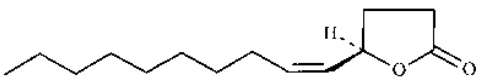
4) 还有的信息素,两种镜面体同时存在时,活性大大增强,即有协同作用,如甲虫棘径小蠹(*Gnathotrichus sulcatus*)的集合信息素为(*S*)-(+)-与(*R*)-(−)-sulcatol (**140**)的 65∶35 混合物。后来发现消旋体的活性比天然产物更强,而 *S* 体或 *R* 体的活性最弱。说明该昆虫有两种体,必须 *R*-*S* 信息素同时与体结合才产生强烈的生理作用。

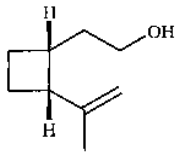

159

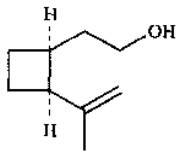

160


161


162


163


164


165

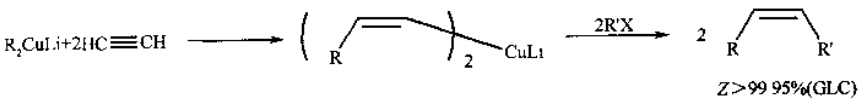
四、昆虫信息素的合成

由于昆虫对信息素的立体化学(这包括对几何异构及光学纯度)要求很高,因此在过去的10余年中已有许多合成研究工作的报道。现在对于合成高纯度的顺、反式几何异构体的方法已日臻完备,人们已把兴趣转到对光学活性的信息素的合成方面。如果合成的目的是为了决定双键的几何异构或不对称中心的绝对构型时,合成反应的主体选择性稍差问题不大,而如果合成的目的是为了进行生物试验时,则要求反应立体专一性非常高,并在合成过程中要避免异构化,否则混入少量异构体,就会得不到明确的生物活性的结论。

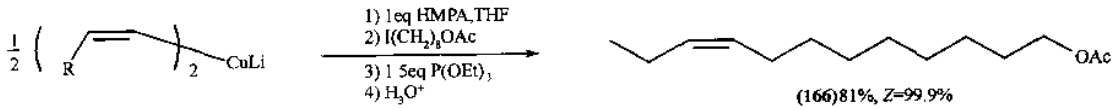
1. 几何异构体的合成

(1) *Z*-双烯锂铜(R_2CuLi)

Z-双烯锂铜可以定量地立体专一性地加到乙炔上,生成 *Z*-双烯锂铜,纯度大于99.9%[95]。反应式如下:



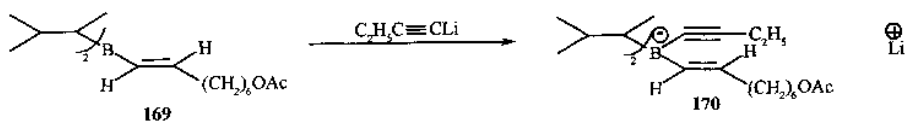
运用这个反应合成了葡萄果蠹(*Eupoecilla ambiguella*)的性息素(**166**)。由于1%的 ***E***-异构体即会完全抑制其生物活性,要求反应的立体专一性非常高。反应式如下:



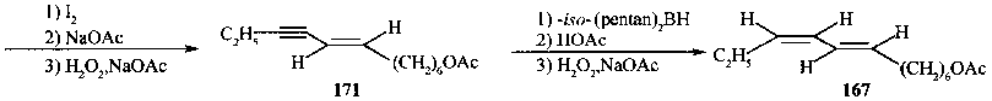
其中 HMPA 为六甲基磷酰胺(hexamethyl phosphoramide,$[(CH_3)_2N]_3PO$)。

(2) 炔键移位及有机硼反应

(7*E*, 9*Z*)-7,9-十二碳二烯-1-醇乙酸酯(**167**)为花翅小卷蛾 *European grapevinemoth*、*Lobesia botrana*



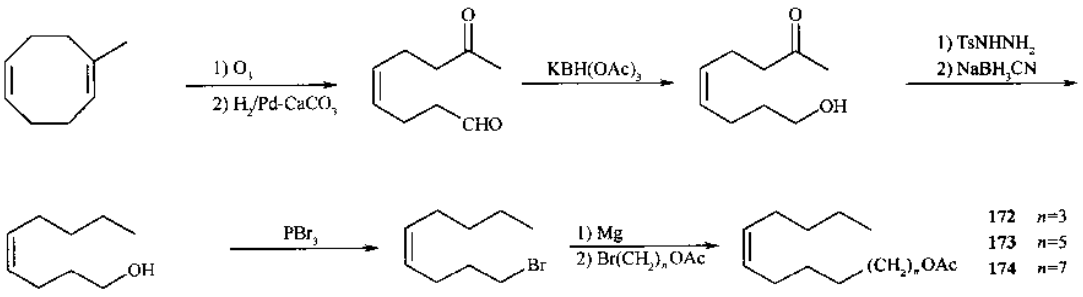
的性信息素，Negishi 的合成路线如下[96]：



首先运用了炔键移位反应[97]，3-氨基丙胺基钾（potassium 3-aminopropylamide，KAPA）是一个理想的活性催化剂，可使炔键定量地发生移位。用有机硼 disiamylborane（**168**）进行立体选择性还原[98]，生成**169**，再与炔基锂起反应，炔基锂优先与立体障碍很大的三取代硼烷起反应，而不是乙酸酯，这个反应具有高度的化学选择性。**170** 与 I_2 反应发生重排，可以立体选择性地合成共轭反式烯炔（**171**），而 1,2-二甲基丙基移到炔键上的很少。**171** 再用有机硼进行还原生成 **167**。

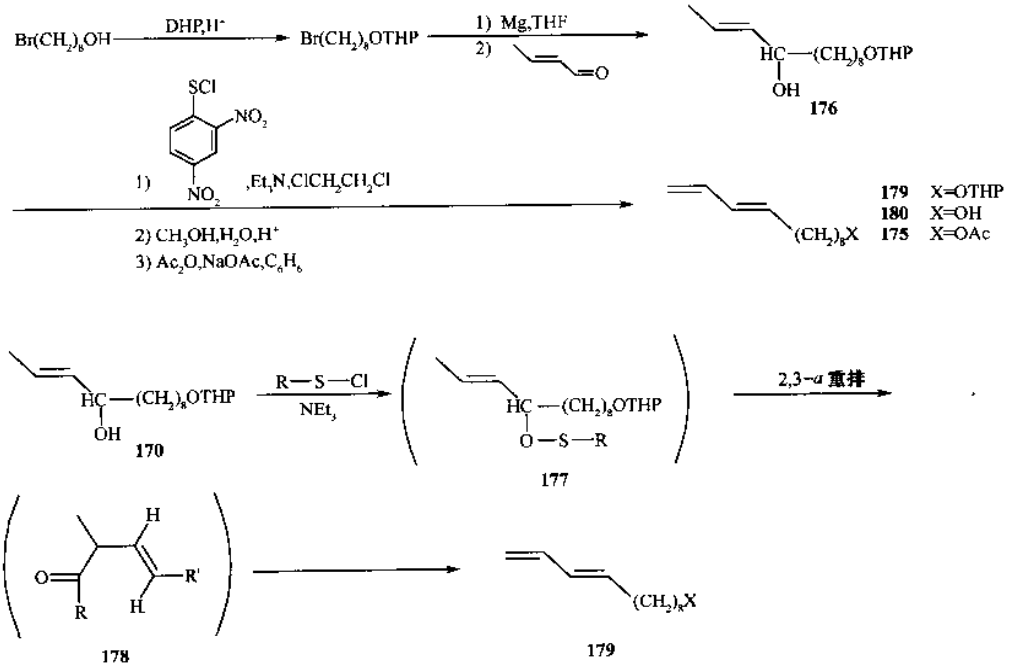
（3）1-甲基-1*Z*-5*Z*-环庚二烯

1-甲基-1*Z*-5*Z*-环庚二烯的选择性地氧化三取代双键，得率为 85%。用此法[99]已合成了粉纹夜蛾（*Trichoplusia ni*）性信息素（**172**），草地夜蛾（*Spodoptera frugiperda*）性信息素（**173**）和旋幽夜蛾（*Scogogramma trifoli*）性息素（**174**）。反应式如下：



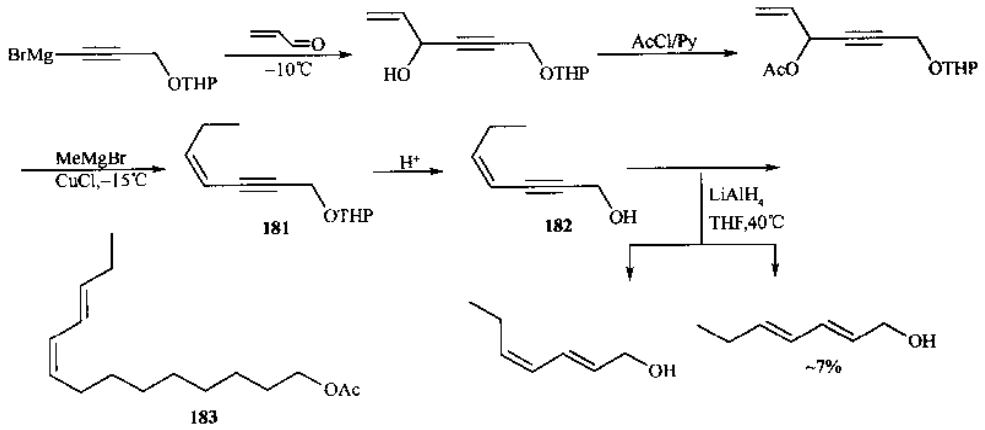
（4）丙烯醇次磺酸酯重排成亚砜反应的应用[100]

Babler 等用下列方法合成了苏丹棉铃虫（*Diparopsis castanea*）的性信息素（**175**）。关键的一步，运用了 Reich 发现的方法[101]。**176** 在三乙胺存在下，与 R-S-Cl 反应生成丙烯醇次磺酸酯（**177**），后者经 2,3-sigma 重排成（**178**），再发生消除反应 6，反应式如下：



(5) 格氏试剂与 1-烃炔-2-丙烯基乙酸酯的偶合反应

在亚铜离子存在下，1-烃炔-2-丙烯基乙酸酯(1-alkynyl-2-propenyl acetate)与格氏试剂反应生成共轭的 Z-烯炔(**181**)得率 80%[102]。用此法可以大量合成生产海灰翅夜蛾性信息素(**183**)[103]。副产物 *E*，*E*-化合物可以与四氰乙烯进行 Diels-Alder 加成而除去。



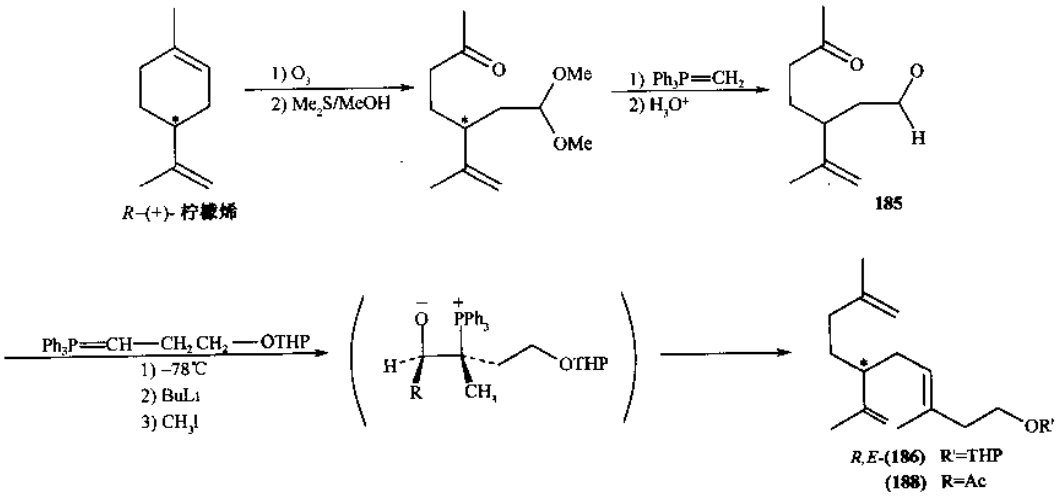
2．对映异构体的合成

对映异构体的合成一般有三个途径：①用已知绝对构型的光学纯的化合物为原料进行立体专一性合成，如 α-氨基酸、羟基酸、萜类和碳水化合物等；②对映异构体的拆分；③化学或生物化学不对称合成。

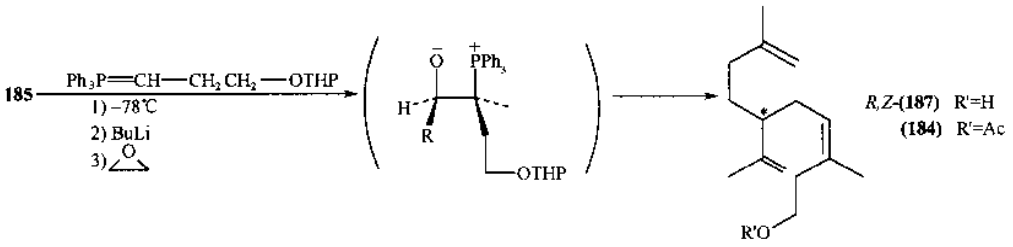
(1) 用已知绝对构型的光学化合物为原料的立体专一性合成

合成原料一般为萜类，氨基酸或糖类等。

桑白盾蚧(*Pseudaulacaspis pentagona*)的性信息素是 *R*，*Z*-3,9-二甲基-6-(1-甲基乙烯基)-3,9-癸二烯-1-醇-20 丙酸酯(**184**)(R′ = Ac)。由于只获得 5μg 天然的**184**，用微量技术决定了 3-位的双键为 Z 型，而要决定 6 位的绝对构型，只能将两种异构体都合成出来，再用生物试验进行鉴定。它的四个异构体(*R*，*Z*；*R*，*E*；*S*，*Z* 和 *S*，*E*)已分别从 *R*-(+)-柠檬烯合成。生物试验表明天然信息素为 *R*，*Z*-型[104]。



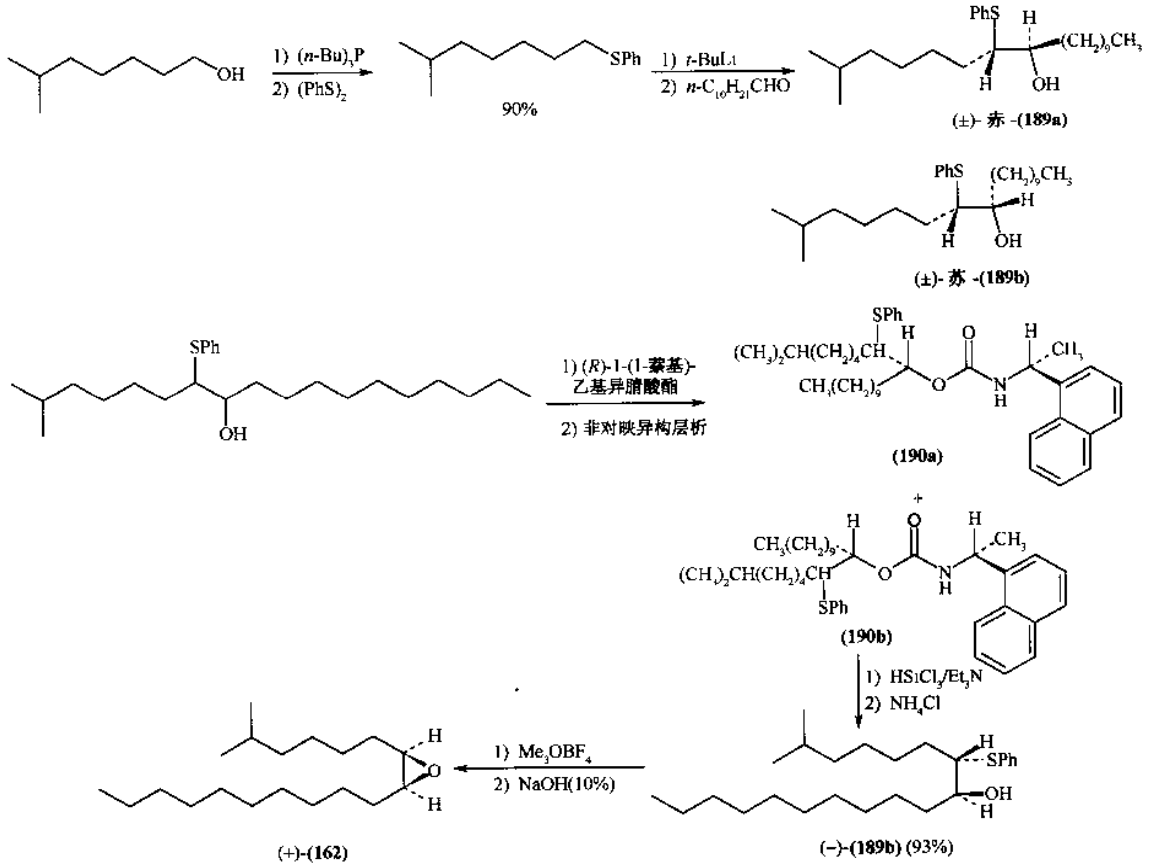
叶立德(Ylid)与醛(**185**)反应形成内盐(betaine)中间体，在 −78℃用丁基锂去质子，生成的碳阴离子与亲电试剂碘甲烷立体专一性地反应，生成 *E*-186，纯度为 97%，得率 35%。*Z*-187 由类似反应合成。最后一步环氧乙烷反应得率只有 15%，但 *Z*-187 的纯度有 98%。



(2) 对映体的拆分

如果合成反应没有立体专一性，则可以在合成的适当阶段，采取适当的办法进行拆分。事实上，即使采用立体专一性反应，也难以获得100%光学纯度的产物，必要时也需要进行拆分。

如盗毒蛾(*Porthetria dispar*)的信息素(**162**)，合成时生成的**189**和**190**均为1:1混合物，可以用于层析进行分离[105]。反应式如下：



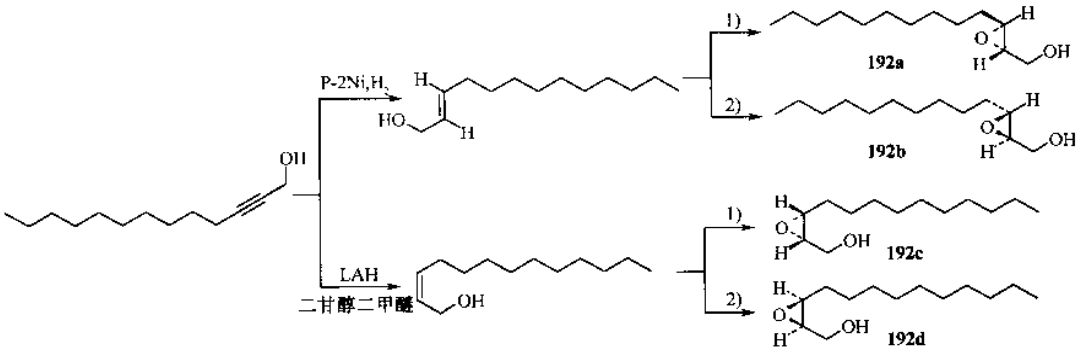
(±)-**189b**的拆分是把它与(*R*)-1-(1-萘基)-乙基异腈酸酯反应转化成氨基甲酸酯**190a**及**190b**，然后经柱层析分离，低R_f值的非对映异构体(**190b**)经硅烷解生成[(-)-**189b**]，这个硅烷解反应不影响氨基甲酸酯中醇的立体化学[106]。(-)-**189b**先通过甲基化，再经碱处理闭环，可立体专一性地转变成盗毒蛾信息素[(+)-**162**]，总得率为12%。

本法可用于合成顺式或反式的消旋体及顺式或反式的纯的对映异构体。

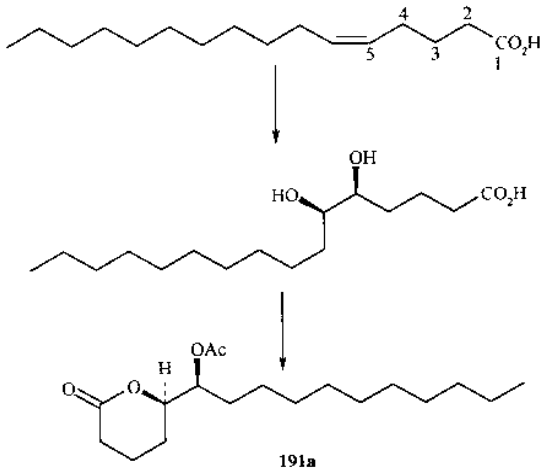
(3) 不对称合成

淡色库蚊致乏亚种 *Culex pipiens fatigans* 的产卵引诱素为**191a**[107]。为了进一步证实结构，作不对称合成方法合成了**191a**～**191d**[108]。

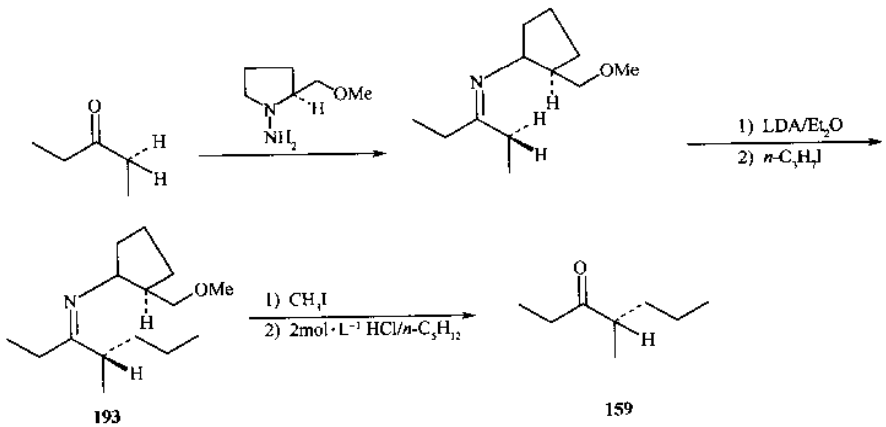
合成关键是**192a～192d**的制备。它们分别由反式烯键、顺式烯键 Sharpless 氧化而得。条件为① L(+)-DET/Ti(Opr^i)$_4$/*t*-BuOOH(1∶1.2∶1)；② D(−)-DET/Ti(Opr^i)$_4$/*t*-BuOOH(1∶1.2∶1)。然后再用七步反应分别转化为**191a**、**191b**、**191c**及**191d**。反应式如下：



英国 Pickett[5]在合成一种库蚊的产卵引诱信息素(mosquito oviposition pheromone)十六碳内酯(**191**)时，发现其四个光学异构体中仅赤式结构中 5*R*，6*S* 为有效体，其他三种光学体 5*S*，6*R*；5*S*，6*S*；5*R*，6*R* 均无效。反应式如下：



在对称的原料分子中引入手性试剂，来诱导不对称合成，也是昆虫信息素合成中的一个途径。反应式如下：

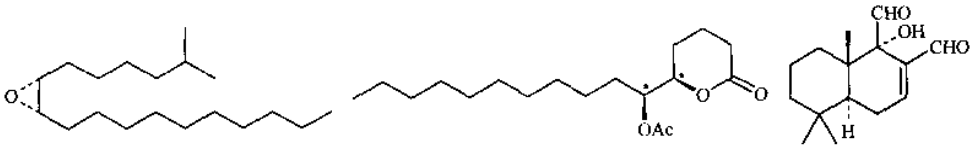


S-(+)-4-甲基-3-庚酮(**153**)是蚂蚁的告警信息素。先将二乙酮与手性试剂 S-1-氨基-2-甲氧甲基吡咯烷(S-1-amino-2-methoxymethyl-pyrrolidene)反应，生成的腙先与二异丙基锂氨(LDA)反应，再在 −110℃与

正碘丙烷反应生成**185**，然后用碘甲烷及酸处理得到**184**，总产率为60%，光学纯度为99.5%。此物的不对称诱导的强弱与所用溶剂有关，如用乙醚，*S*-184的对映体过量为99.5%，用二甲氧基乙烷(DME)是93%，THF是85%，THF/HMPA是70%[109]。

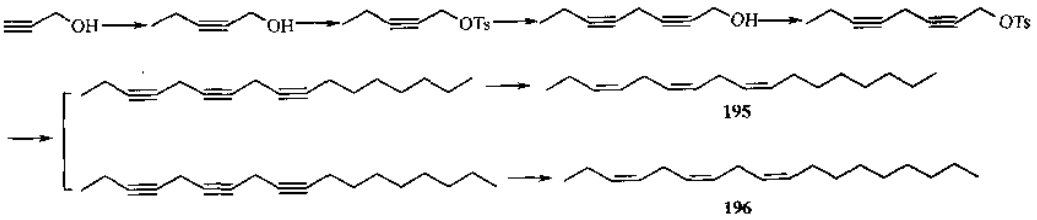
3．我国昆虫信息素合成研究现状

20世纪70年代中后期，中国的有机化学家即对当时国际热门领域，昆虫信息素的合成开展了跟踪而有创造性的研究工作。前后合成了一大批昆虫(棉红铃虫[110]等)信息素。上海有机化学研究所的昆虫信息素小组在80年代着重于一些具手性的信息素的不对称合成[111~113]，林国强继续致力于昆虫性信息素(如松干蚧性信息素 sex pheromone of *Matsucoccus pine* bast scale)所有4个可能的光活性异构体[114]的手性合成，贺菊芳等则从 β-紫罗兰酮出发合成昆虫拒食剂 warburganal (**194**)和其系列的倍半萜化合物[115, 116]。李焰等[117]用(2*R*)-茨烷磺内酰法合成了红褐林蚁(*Formica rufa*)和多点林蚁(*Formica polyctena*)昆虫信息素的主要组分——3-乙基-4-甲基戊酸甲酯。



162　　**191a**　　**194**

国槐尺蠖(*Macaria elongaria* Leech)是危害我国北方重要树种国槐的一种主要害虫，其信息素的活性成分被李正名等[118]于1988年确定，为非共轭直链二烯或多烯类，龚考才等[119]完成了其中两个主要组分(**195**和**196**)的全合成。反应式如下：



五、昆虫信息素的应用与研究展望

对昆虫信息素的应用来讲，经过30余年实践与探索，明显的结论是昆虫信息素用于监察、调查虫情的消长，是一种非常简便有效的手段。

昆虫信息素最终是否能用于害虫的防治，还有一段较长的艰苦路程。这很大部分取决于人们对昆虫信息素的释放机理及信息素与感受器的作用机理的了解程度。

当前昆虫信息素研究的战略目标如下：

1) 有一定难度的信息素的结构鉴定，仍然应是今后的主要研究内容，这对分离分析技术的改进、新的分析手段的出现及人们对自然奥秘的探索是一种推动力量。例如，美国白娥(*Hyphantria cunea*)的性信息素在1982年被鉴定出是一个光学活性的环氧二烯烷和其他两个长链双烯醛，并鉴定出更微量的三个手性环氧三烯烷。

2) 手性信息素的立体化学与活性的关系，合成光学活性信息素并研究活性与立体化学的关系，在信息素分子中引入氟原子提高性能的工作已有报道。

3) 对于信息素释放及感受机理的了解。目前人们已发现了一种触角短毛感受器的分析方法，这比沿用20余年的传统的触角电位谱技术更灵敏，并更能反映出不同类感受器对信息及各组分的感应情况。人们还发现雄舞毒蛾(*Lymantria dipar*)的触角中有一种环氧化物的水解酶，这种酶能将光学活性的舞毒蛾性信息素立体选择性地转变成苏式的二醇化物，其对映体也能被同样的酶转变成同样的二醇化物。一个很有影响

的工作是有人发现烟草铃虫(*Helio thiszta*)性信息素的释放是受到脑中的信息素释放因子所控制,并且分离出一种神经多肽。最近,测定了该肽是由33个氨基酸组成的,相对分子质量为3900。

按照目前的学术和技术水平,我们完全可以设想把一些具有驱蚊作用的植物中的目标基因转入花卉,使花卉能释放出驱蚊的气味物质,在观赏的同时又达到驱蚊效果。我们同样可以让绿化草坪释放驱蚊物质,以达到蚊子的综合生态治理,造福于人类健康。利用同样的原理,我们还可以发展新型的能有效控制害虫各种行为的转基因作物,诸如将具有天然驱虫作用、抑制幼虫取食和成虫产卵,引诱害虫天敌等物质的植物基因转入到目标作物上去,让作物自身释放一些气味物质或产生特殊物质来干扰害虫的寄主定向,抑制幼虫的取食或成虫产卵的行为或释放吸引大量天敌的气味物质来抵御害虫的危害。这类能够调控昆虫行为的基因植物的最大优点,就是对人类完全无害,易被人们所接受。

在植物气味调控昆虫行为的研究中,昆虫学家和农业化学家感兴趣的是植物气味中哪些成分对昆虫行为有调控作用。研究主要侧重于植物气味物质的化学结构鉴定及利用人工合成物来控制昆虫行为。研究较多的是植物性引诱剂、驱避剂、拒食剂、生理生化抑制剂和干扰剂等。植物生理学家对调节植物次生代谢产物的研究显得非常活跃,这些研究大都与食品和医药有关,而且以探索各种提高天然次生代谢产物产量的途径为主要奋斗目标。对植物-昆虫间化学通信信号的生物诱导及其基因调控研究却处于空白状态,而"植物气味与昆虫行为的相互关系"是一座桥梁,可以把植物生理学家、昆虫学家和有机化学家联系在一起,深入探索植物气味物质对植食性昆虫行为的影响,研究控制这些气味物质生物合成的酶系统,并进行基因克隆,我们就可以选育出能调控昆虫行为的新型农作物产品,并发展成一种全新概念的利用农作物本身释放的气味物质来控制虫害的新理论和新技术。

昆虫信息素化学是迅速发展的领域之一,应重视研究开发。昆虫信息研究的战略已转向多学科交叉,重点是对于信息素体内的生物合成,释放控制因子和感受机制的深入研究及难度更高更微量的信息素的结构鉴定,光学活性物质的合成等。

参 考 文 献

[1] Hick A et al. Nat Prod Rep, 1999, 16: 39

[2] Mori K. Tetrahedron, 1989, 45: 3233

[3] Shani A. Drug Development Research, 2000, 50: 400

[4] Harborne J B et al. Ecological Chemistry and Biochemistry of Plant Terpenoids. Oxford: Oxford University Press, 1991, 331

[5] Wighley S et al. Phytochemical Diversity a Source of New Industrial Products. the Royal Society of Chemistry, Cambridge, OxInformation Services, 1997, 220

[6] Barton D H et al. Comprehensive Natural Products Chemistry. New York: Elsevier, 1999, 8: 197, 263

[7] 杜家纬. 植物生理学报, 2001, 27: 193

[8] 石奇光. 昆虫信息素防治害虫技术. 上海: 上海科学技术出版社, 1987, 3

[9] Butenandt A et al. Z Naturforsh, 1954, 96: 389

[10] Huber R et al. Chem Ber, 1965, 98: 2403

[11] Nakanishi K et al. Chem Commoun, 1966, 915

[12] U S Patent, 1967, 87: 325

[13] U S Patent, 1978, 36: 134

[14] Jacobson M et al. Natural Occurring Insecticides. New York; Marcel Dekker, 1971, 333

[15] Kerkut G A et al. Comprehensive Insect Physiology. Biochemistry and Pharmacology, Oxford: Pergamon Press, 1985, 7: 186

[16] U S Patent, 1972, 10: 138

[17] U S Patent, 1977, 15: 13

[18] King D S et al. Nature, 1969, 221: 955

[19] Moriyama H et al. Gen Comp Endocrin, 1970, 5: 80

[20] Ohnishi E et al. Recent Advances in Insect Biochemistry and Molecular Biology. Nagoya: University of Nagoya Press, 1995, 45

[21] Koolman J. Ecdysone, From Chemistry to Mode of Action. Stuttgart: Georg Thieme, 1989, 167: 174

[22] Meister M F et al. Mol Cell Endocrinol, 1985, 41: 27

[23] Mitsuhashi J. Invertebrate Cell System in Applications. Boca Raton: CRC Press, 1989, 1: 99

[24] Bocking D et al. Eur J Entomol, 1995, 92: 63

[25] Morgan E D et al. Handbook of Natural Pesticides. Boca Raton: CRC Press, 1987, 3, Part A: 15

[26] Harada N et al. J Am Chem Soc, 1969, 91: 3989
[27] Kooreda M et al. J Chem Soc Chem Commun, 1969, 542
[28] Nijhout H F. Insect Hormones. Princeton: Princeton University Press, 1994
[29] Morgan E D et al. Handbook of Natural Pesticides. Boca Raton: CRC Press, 1987, 3, Part A: 87
[30] Williams C M. Nature, 1956, 178: 212
[31] Meyer A S. Nature, 1965, 202: 272
[32] Röller H et al. Life Sci, 1965, 4: 1617
[33] Röller H et al. Angew Chem, Int Ed Engl, 1967, 6: 179
[34] Dahm K H et al. J Am Chem Soc, 1967, 89: 5292
[35] Mayer A S et al. Proc Nat Acad Sic USA, 1968, 60: 853
[36] Bergot B J et al. Proc Nat Acad Sic USA, 1973, 70: 1509
[37] Bergot B J et al. Science, 1980, 210: 336
[38] Liu M A et al. Physiol Entomol, 1988, 13: 69
[39] Bergot H F et al. Juvenile Hormone Biochemistry: Action, Agonism and Antagonism Amsterdam: Elsevier, 1981
[40] Sláma K et al. Proc Nat Acad Sic USA, 1965, 54: 411
[41] Sláma K et al. Biol Bull, 1966, 130, 235
[42] Bowers W S et al. Science, 1966, 154: 1020
[43] Černý V et al. Tetrahedron Lett, 1967, 8: 1053
[44] Manville J F et al Coll Czech Chem Commun, 1977, 42: 3658
[45] Meyer A S et al. Biochem Biophys Res Commun, 1970, 41: 891
[46] Faulkner K J et al. J Am Chem Soc, 1971, 93: 3766
[47] Johnson W S et al. J Am Chem Soc, 1970, 93: 4463
[48] Mori K et al. Tetrahedron, 1988, 44: 343
[49] Naknishi K et al. J Chem Soc, Chem Commun, 1971, 1235
[50] Bowers W S et al. Science, 1976, 193: 542
[51] Livingstone R et al. J Chem Soc, 1957, 1509
[52] Brooks G T et al. Nature, 1979, 281: 570
[53] Schooley D A et al. Proc Nat Acad Sic USA, 1973, 70: 2921
[54] Peter M G et al. Helv Chim Acta, 1975, 58: 1037
[55] Jenning R C et al. J Chem Soc, Chem Commun, 1975, 21
[56] Hummel H E et al. Techniques in Pheromone Research. New York: Springer, 1984
[57] Acree T E et al. Semiochemistry, Flavours and Pheromones. Berlin: de Gruyter, 1985
[58] Pawlszyn J et al. Solid Phase Micro Extraction, Theory and Practice. New York: Wiley VCH, 1997
[59] Malosse C et al. J High Resolut Chromatogr, 1995, 18: 669
[60] Maier I et al. Naturwissen schaften, 1996, 83: 378
[61] Borg-Karlson A K et al. Z Naturforsch Teil C, 1996, 51: 599
[62] Arn H et al. Z Naturforsch Teil C, 1975, 30: 722
[63] Attygalle A B et al. Angew Chem, 1988, 100: 475
[64] Angew Chem, Int Ed Engl, 1988, 27: 460
[65] Millar J G et al. Methods in Chemical Ecology. New York: Chapman & Hall, 1988
[66] Butenandt A et al. Z Naturforsch, 1959, 14B: 283
[67] Butenandt A et al. Angew Chem, 1961, 73: 349
[68] Arn H et al. List of Sex Pheromones of Lepidoptera and Related Attractants. Wädenswil, International Orgnization for Biological Control. West Palearctic Regional Section, 2nd Edn, 1992
[69] Persoons C J et al. Tetrahedron Lett, 1976, 17: 2055
[70] Stil W C et al. J Am Chem Soc, 1979, 101: 2493
[71] Adams M A et al. J Am Chem Soc, 1979, 101: 2495
[72] Kitahara T et al. Tetrahedron, 1987, 43: 2689
[73] Linn C E et al. J Chem Ecol, 1985, 11: 1583
[74] Carde R I et al. Insect Pheromone Research, New Directions. New York: Champman & Hall, 1997
[75] Raina A K et al. Science, 1984, 225: 531
[76] 董红等. 生命科学, 1996, 8: 26
[77] Kubo I et al. Tetrahedron Lett, 1985, 26: 563

[78] Kasang G et al. Angew Chem, Int Ed Engl, 1978, 17:60
[79] Morrison A D. Asymmetric Synthesis. New York: Academic Press, 1983: 1: 201
[80] Schurig V. Kontakte(Darmstadt), 1985, 1: 54
[81] Schurig V. Kontakte(Darmstadt), 1985, 2: 22
[82] Schurig V. Kontakte(Darmstadt), 1986, 1: 3
[83] Silverstein R H et al. J Chem Ecol, 1976, 2: 307
[84] Silverstein R H et al. J Chem Ecol, 1977, 3: 27
[85] Dale J A et al. J Org Chem, 1969, 34: 2543
[86] Riley R G et al. Science, 1974, 183: 760
[87] Cross J H et al. J Chem Ecol, 1976, 2: 457
[88] Mori K et al. Tetrahedron, 1978, 34: 3119
[89] Iwaki S et al. J Am Chem Soc, 1974, 96: 7842
[90] Vité J P et al. Naturwissenschaften, 1976, 63: 582
[91] Miller J R et al. J Insect Physiol, 1978, 23: 1447
[92] Harring C M et al. Z Angew Entomol, 1977, 82: 327
[93] Tumlinson J H et al. Science, 1977, 197: 789
[94] Mori K et al. Naturwissenschaften, 1978, 65: 653
[95] Cahiez G et al. Tetrahedron lett, 1980, 21: 1433
[96] Negeshi E et al. Tetrahedron Lett, 1977, 18: 411
[97] Brown C A et al. Chem Commun, 1977, 318
[98] Negeshi E et al. Chem Commun, 1973, 874
[99] Odinokov B N et al. Zh Org Khim, 1979, 15: 1403
[100] Babler J H et al. J Org Chem, 1979, 44: 3723
[101] Reich H J et al. J Am Chem Soc, 1978, 100: 5981
[102] Cassani G et al. Tetrahedron Lett, 1979, 20: 633
[103] Cassani G et al. Tetrahedron Lett, 1980, 21: 3497
[104] Heath R R et al. J Org Chem, 1980, 45: 2910
[105] Pirkle W H et al. J Org Chem, 1979, 44: 1025
[106] Pirkle W H et al. J Org Chem, 1977, 42: 2781
[107] Laurence B R et al. Chem Commun, 1982, 59
[108] Lin G Q et al. Tetrahedron Lett, 1985, 26: 1233
[109] Enders D et al. Angew Chem, 1979, 91: 425
[110] 仲同生等. 化学学报, 1982, 40: 856
[111] 林国强等. 化学学报, 1984, 42: 74
[112] 林国强等. 化学学报, 1985, 43: 257
[113] Lin G Q et al. Pure & Appl Chem, 1993, 65: 1233
[114] Lin G Q et al. Tetrahedron Lett, 1993, 34: 5931
[115] 贺菊芳等. 科学通报, 1989, 4: 32
[116] He J F et al. Tetrahedron, 1988, 29: 4039
[117] 李焰等. 化学学报, 2001, 59: 763
[118] Li Z M et al. Proceeding of China-Japan Seminar on Isect Semiochemicals. Beijing, 1988, 29
[119] 龚考才等. 泸州医学院学报, 2000, 23: 6

(杨益平)

第八章　二萜类化合物

二萜类(diterpenoid)化合物是具有20个碳为骨架的碳氢化合物，通常可以用$(C_5H_8)_4$为通式加以代表。二萜类化合物广泛的分布在自然界中，包括植物、动物、海洋动物等。近年来，二萜化合物的骨架，不断有新的发现，可能已超过100种。常见的二萜基本骨架如图8-1所示[1]。本章对已经作为药物在临床上使用，或者有希望成为药物的一些二萜化合物加以介绍。要想了解二萜化合物的全面进展，可参阅杂志 *Natural Products Reports*，此杂志每年都按年代连续发表二萜化合物的进展。

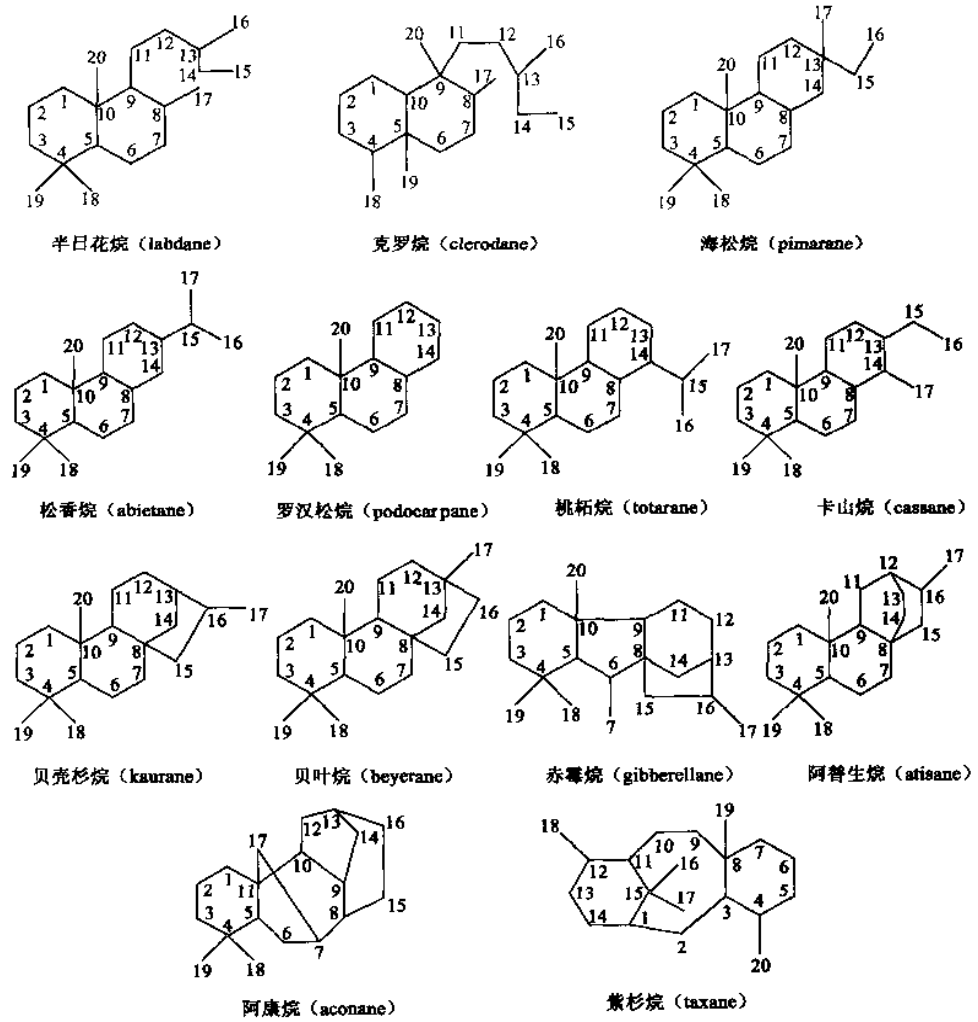


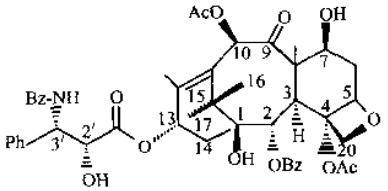
图8-1　二萜化合物的基本骨架

第一节　紫杉烷二萜

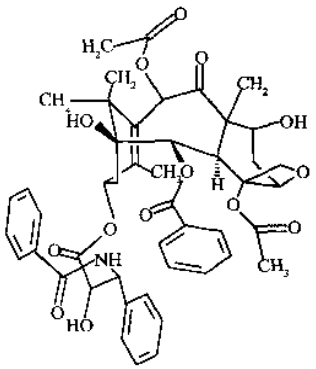
紫杉烷(taxane)二萜是从红豆杉科(Taxaceae)红豆杉属(*Taxus* L.)植物中分离的以紫杉醇(taxol, **1**)为代表的二萜。紫杉醇已成为一种有效的抗肿瘤药物。1992年，美国食品药品管理局(FDA)批准紫杉醇上市，商品名为Taxol(paclitaxel)，用于治疗卵巢癌。紫杉醇除对卵巢癌有效外，对转移性乳腺癌、肺癌、头部和

颈部肿瘤、恶性黑色素癌和淋巴肉瘤同样有效。美国 BMS 公司第一个把紫杉醇推上市场，继中国之后，瑞典、法国、日本等 40 多个国家已有紫杉醇面市。我国上市的紫杉醇商品名为“紫烷素”，又称“紫杉醇注射液”(paclitaxel injection)。紫杉醇已经成为重要的抗肿瘤药物之一，也是天然二萜化合物具有治疗人类重大疾病的活性的一个标志。

1971 年，Wani 和 Wall[2]从短叶红豆杉(*Taxus brevifolia*)树皮中首次分离得紫杉醇。直到现在，我们还只能认为紫杉烷(taxane)二萜化合物仅仅发现于红豆杉属植物之中。现已从红豆杉属植物中共分离得到 300 余个紫杉烷二萜化合物。



紫杉醇（taxol, 1）



stereoview of taxol

一、紫杉烷二萜分类和结构

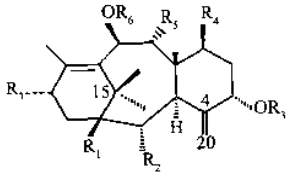
在 1992 年之前，分离得到的天然紫杉烷二萜的骨架多以 6/8/6 三个环的方式稠合而成。根据 C-4 和 C-20 的不同结构将它们分为以下四类[3]：

A 组，C-4 位有环外双键的紫杉烷类二萜。

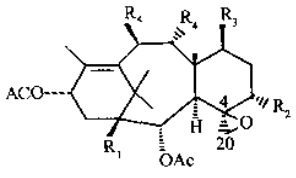
B 组，C-4 和 C-20 位存在有环氧乙烷(oxirane)的紫杉烷类二萜。

C 组，C-4、C-5 和 C-20 位存在有环氧丙烷(oxetane)的紫杉烷类二萜。

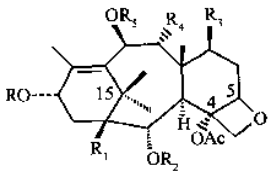
D 组，只有一个化合物为 taxin A。



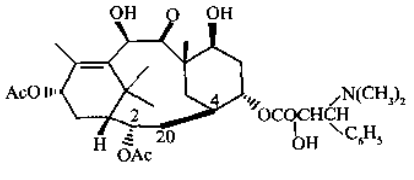
A



B



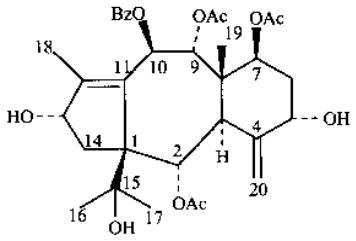
C



D

随着研究工作的深入，其他稠合方式的紫杉烷相继发现，特别是 abeo① -紫杉烷(abeo-taxane)在紫杉中发现，abeo 紫杉烷理化常数与紫杉烷极为相似。它的发现是 Fuji 用 X 射线研究 taxchinin A(**6**)的结构时发现它的骨架不同于紫杉烷，化合物 **6** 的结构表现在 A 环为五元环，C-15 连同其偕二甲基位于 C-1，游离于环之外，C-15 常被氧化，有一个羟基取代成为含氧季碳，C-11 同 C-1 直接成环。命名为 11(15→1)abeo 紫杉烷。abeo 紫杉烷也有在 C-4 位存在环外双键，在 C-4 和 C-20 位存在环氧乙烷，在 C-4、C-5 和 C-20 位存在 oxetane 三种形式存在。

由于 abeo 紫杉烷发现的数量日益增加，原来的紫杉烷结构的分类方法显得不能适应，因此，采用新的分类方法显得十分必要。



taxchinin A (**6**)

按照新的分类方法[4]，先将紫杉烷类化合物依骨架的稠合方式不同分为六大类，即 6/8/6、5/7/6、6/10/6、6/5/5/6、5/6/6、6/12 稠合方式，分别命名为Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ、Ⅴ、Ⅵ型，它们的编号如图 8-2 所示。

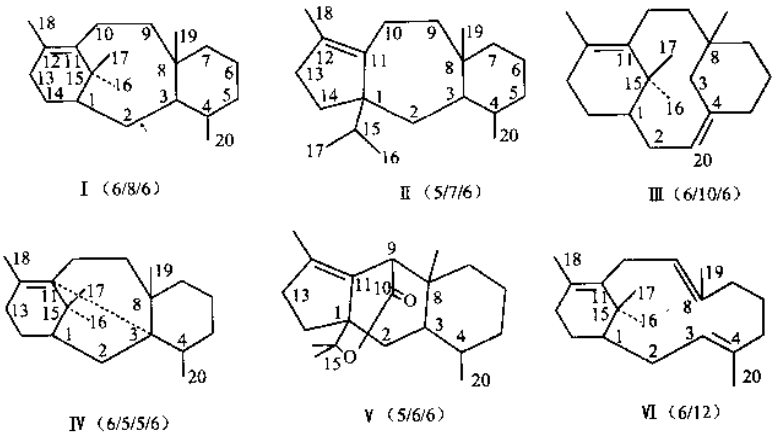


图 8-2　紫杉烷类化合物的六类母核骨架

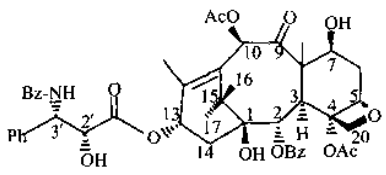
按新的分类方法，以前认为的 A、B 和 C 三组紫杉烷，都归属于第一类，紫杉醇属于第一类，abeo 紫杉烷属于第二类结构。紫杉烷中第一类和第二类的数量最多。其余类型数量很少。

紫杉醇(taxol，**1**)是目前抗肿瘤的有效药物之一。因此，紫杉醇的研究将是我们的重点。从紫杉醇的结构来看，它属于 6/8/6/4 四环稠合二萜，在 C-4 和 C-5 之间有一个四元氧环，C-13 存在有一个酰氨的酯基，C-10 和 C-4 各有一个乙酰基，C-2 有一个苯甲酰基，C-9 有一个羰基，C-7 和 C-1 各有一个羟基，共有手性碳 11 个。另外，一个紫杉烷衍生物 cephalomannine(**2**)与紫杉醇的结构极其相近，(紫杉醇与 cephalomannine 的含量比例为 6.6∶2.6)，紫杉醇与 cephalomannine 的分离就特别困难。cephalomannine 也具有与微管结合抑制微管解聚的活性。

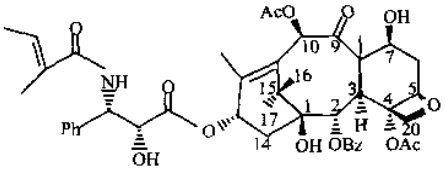
此外，baccatin Ⅲ(**4**)和 10-deacetyl baccatin Ⅲ(**5**)也是值得我们注意的衍生物。化合物 **4** 和 **5** 是半合成紫杉醇的重要原料。紫杉醇∶baccatin Ⅲ∶10-deacetylbaccatin Ⅲ的含量比例为 6.6∶1.7∶9.4。由 10-deacetyl-

① abeo 指化合物的键发生了转移，例如 11(15→1) abeo 紫杉烷是指 C-11 和 C-15 相连的碳键经转移成为 C-11 和 C-1 相连的碳键的紫杉烷。

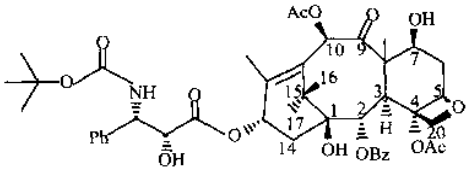
Baccatin Ⅲ为原料合成的紫杉醚(taxotere,**3**),具有同紫杉醇相近的活性,但毒副作用较小,1994 年在墨西哥上市,用于治疗乳腺癌和肺癌等。



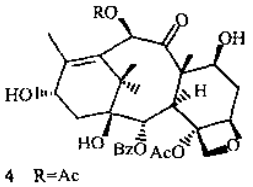
1



2



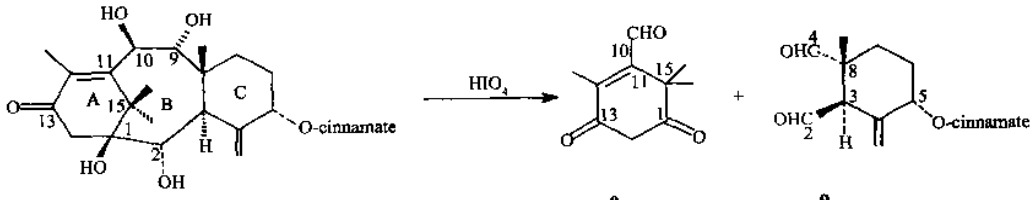
3



4 R=Ac
5 R=H

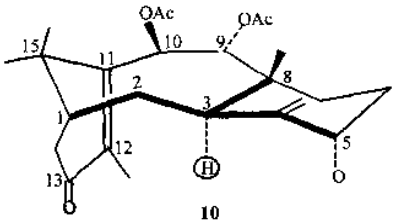
二、紫杉烷的骨架

将 O-cinnamoyltaxicin-Ⅰ(**7**)用过碘酸氧化,得化合物 **8** 和化合物 **9**。化合物 **8** 证明紫杉烷的 A 环为六元环,并证明 $\Delta^{11,12}$存在一个双键,C-15 存在一个偕二甲基,从化合物 **9** 的结构可以证明 C 环也存在六元环,在 C-4 存在有环外双键,而化合物 **8** 的结构中存在的一个醛基和一个羰基与化合物 **9** 中的两个醛基都充分证明了紫杉烷的 B 环为八元环。这样,紫杉烷的骨架得到了化学上的证明。



7 **8** **9**

应用 X 射线也证明紫杉烷的骨架,并证实 B/C 环为反式骈环,见结构 **10**。

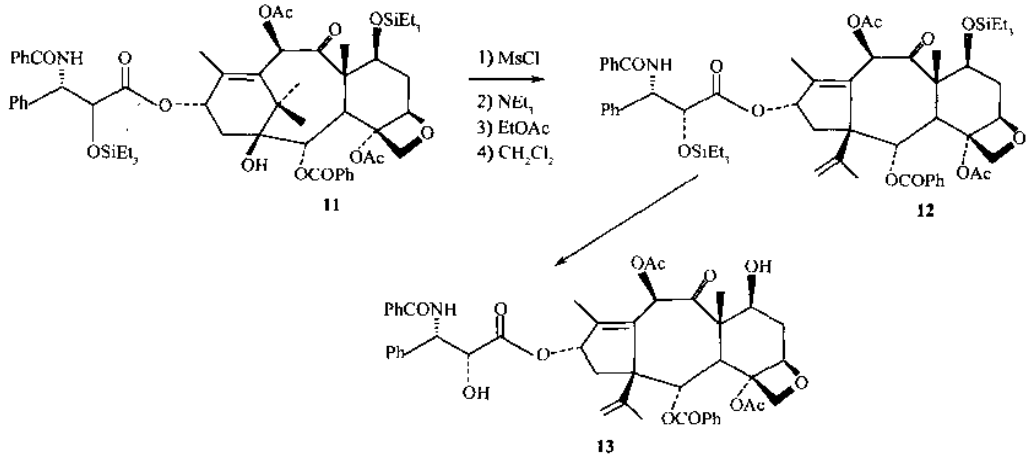


10

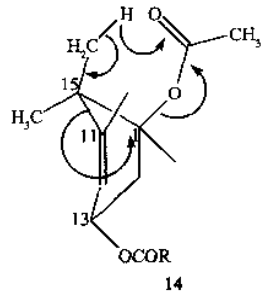
以紫杉醇为例,紫杉烷的取代基的构型,经 X 射线证明 C-2、C-3、C-4、C-13 的取代基为 α 构型,C-1、C-7、C-10 的取代基为 β 构型,C-9 位若被取代为 α 构型。

abeo 紫杉烷的骨架是经过 X 射线加以证实的[5],从化合物 **6** 可知,abeo 紫杉烷的 A 环为五元环,C-15 游离于环外,通常均被氧化,有羟基取代,为一含氧季碳。结构的其余部分与紫杉烷相同。

从紫杉烷可以经过重排反应产生 abeo 紫杉烷。先将紫杉烷硅烷化,产生 2′,7-二(三乙基硅)紫杉醇(**11**),将化合物 **11** 在三乙基胺和氯化甲基磺酸的作用下,产生(1α)-15(16)脱氢-2′,7-二(三乙基硅)-11(15→1)aebo-紫杉醇(**12**)和(1α)-15(16)脱氢-11(15→1)abeo 紫杉醇(**13**)。



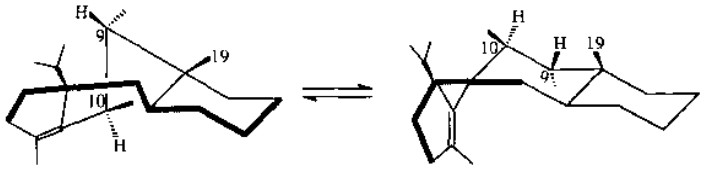
重排反应的机理可以用 **14** 表示如下：



abeo 紫杉烷对 KB 细胞无抑制作用，但其抑制微管解聚作用同紫杉烷相近。

紫杉烷和 abeo 紫杉烷比较难于区别，区别的方法可归纳如下[4]：

1)在常温下紫杉烷氢谱分辨率好，分裂清晰可见。abeo 紫杉烷由于存在有扭船式和扭椅式两种互变异构体，常温下两者比例相差不明显，氢谱分辨率差，分裂不明显，此为 abeo 紫杉烷的重要标志之一。



扭船式（15）　　扭椅式（16）

2)在低温下 abeo-紫杉烷显示的环扭船式(**15**)和扭椅式(**16**)两种构象的氢谱数据，因温度不同两种构象的比例会有所不同，一般扭船式的比例大于扭椅式。可解析扭船式的诸峰，确定化合物的结构。在高温时只显示 B 环扭椅式构象的氢谱数据，此时 9β-H 和 10α-H 的双面夹角变小，偶合常数为 3～5，7α-H 和 9α-H 信号分别向高场位移约 0.5 ppm 和 0.1 ppm。

如化合物 taxchinin D 的常温、低温、高温氢谱如图 8-3 所示。

3)在常温下，也可用氢谱来区别紫杉烷和 abeo 紫杉烷，详见表 8-1 和表 8-2。

表 8-1　具有环外双键的紫杉烷和 abeo 紫杉烷的氢谱的区别

项目	$\delta_{2\beta\text{-H}}$	$J_{2\beta\text{-H},3\alpha\text{-H}}$	$\delta_{9\beta\text{-H和}10\alpha\text{-H的中心}}$	$\delta_{13\beta\text{-H}}$	$J_{13\beta\text{-H},14\beta\text{-H}}$	$\delta_{16\text{-Me}}$
紫杉烷	5.35～5.62	4.8～7.1	6.0	5.71～6.07	>8.0	1.48～1.82
abeo 紫杉烷	5.67～6.14	8.3～9.5	6.35	5.41～5.50	<8.0	1.19～1.39

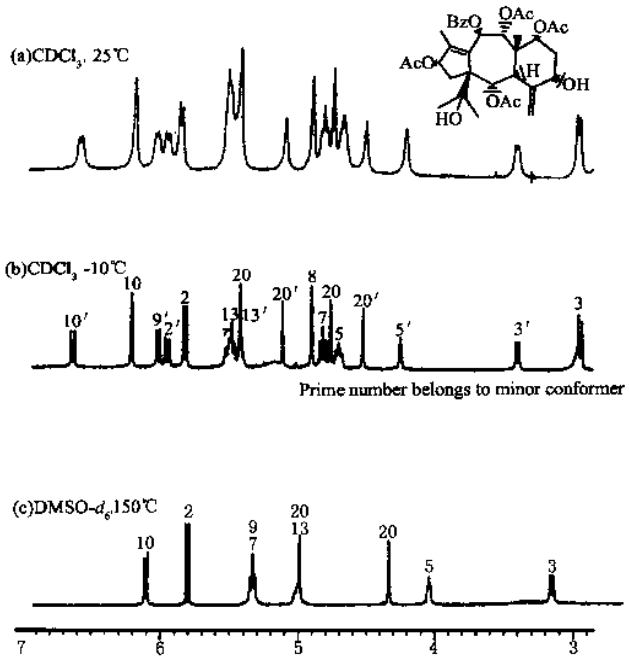


图 8-3 Taxchinin D 在不同温度下的氢谱

表 8-2 具有 oxetane 环的紫杉醇和 abeo 紫杉烷的氢谱的区别

项目	$\delta_{2\beta\text{-H}}$	$J_{2\beta\text{-H},3\alpha\text{-H}}$	$^{*}\delta_{9\beta\text{-H和}10\alpha\text{-H的中心}}$	$\delta_{13\beta\text{-H}}$	$J_{13\beta\text{-H},14\beta\text{-H}}$	$\delta_{16\text{-Me}}$
紫杉烷	5.54～5.88	5.5～7.5	6.10	4.80～5.00(OH) 5.90～6.24(OAc)	>8.0	1.63～1.83
abeo 紫杉烷	6.04～6.62	7.3～8.0	6.50	4.30～4.58(OH) 5.47～5.71(OAc)	<8.0	1.05～1.23

注：* 为 9-OH 和 10-OH 被酰化后的偕氢。

4)abeo 紫杉烷与紫杉烷的碳谱主要区别是 C-1 和 C-15 的信号，abeo 紫杉烷 C-1 的信号一般位于 60～70 ppm 之间，C-15 的信号连有羟基一般在＞75 ppm 的低场。紫杉烷 C-1 连接羟基的信号在 75～80 ppm，C-15的信号由于不连氧则位于 35～50 ppm 之间。abeo 紫杉烷 C-13 存在有羟基和乙酰基取代，信号为 δ 76.7～78.8 和 δ 78.7～79.6 之间，较紫杉烷位于低场约 8 ppm。若 C-13 为羰基取代，则较紫杉烷(δ 199)低场约 7 ppm(δ 204.6～209.7)，C-12 的信号较紫杉烷(δ 140)向低场位移 7 ppm(δ 144.9～148.3)，C-9信号 abeo 紫杉烷较紫杉烷出现在低场(δ 76.0～81.5)而 C-10 信号出现在高场(δ 68)。[6]

三、紫杉烷的生源途径

紫杉烷骨架是通过牻牛儿基牻牛儿醇焦磷酸酯(gerenglgerenyl diphosphate)的环化反应，反应产物是紫杉烷 4(5),11(12)二烯[taxa-4(5),11(12)-diene]，再经过多次反应后，最后形成 baccatin Ⅲ(4)，紫杉醇骨架合成需要从 baccatin Ⅲ的结构开始引入各种基团，紫杉醇的生源途径，可见图 8-4[6,7,175]。

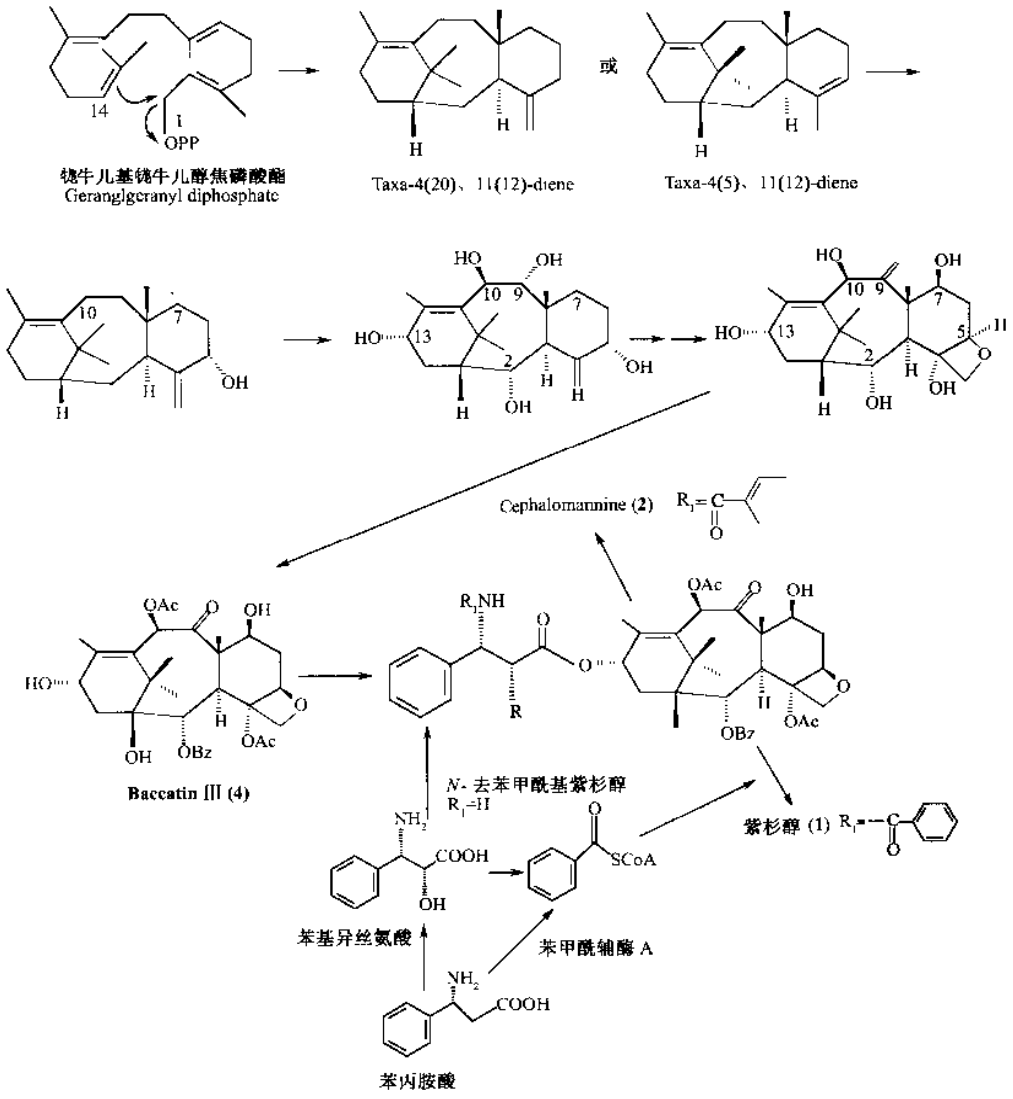
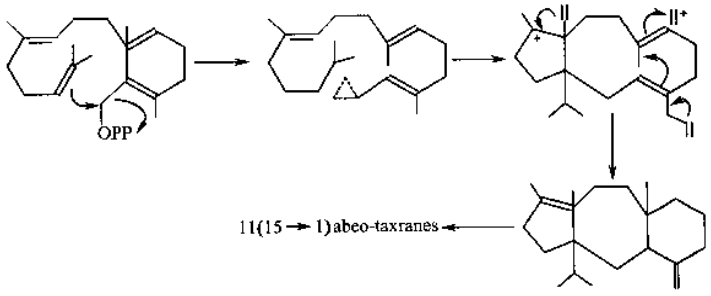


图 8-4　紫杉醇的生源途径

abeo 紫杉烷的生源关系可能也是牻牛儿醇焦磷酸酯通过环合反应产生的，反应如下[8]：



四、紫杉醇的生理活性

1. 紫杉醇的抗癌活性

在天然紫杉烷类化合物中，具有 oxetane 的紫杉烷很多都具有抗癌活性，其中以紫杉醇的活性最强。在体外对 P_{388}、L_{1210}、HL_{60}、P_{1534}白血病细胞，B_{16}黑色素瘤及人卵巢癌细胞均表现出明显的抑制作用。抑制 KB 细胞 $IC_{50}=0.017\ \mu g/mL$，$ED_{50}=0.0012\ \mu g/mL$。体内实验结果表明它对 B_{16}黑色素瘤和 MX-1 乳腺癌的抑制活性很强，对 LX-1 肺癌、CX-1 结肠癌、P_{388}、L_{1210}、P_{1534}白血病细胞、Lewis 肺癌和肉瘤 S-180 等均有较好的活性[9,10]。

紫杉醇在临床上主要用于治疗卵巢癌、乳腺癌、肺癌等，其中以卵巢癌效果最好，有效率可达 30%。更令人兴奋的是，对于铂制剂产生抗药性的病人紫杉醇仍然有效，改变了以往抗铂病人无药可救的状况。此外，紫杉醇还可以用于其他癌症，如食管癌、尿路转移上皮癌、头颈部鳞病、NHL 黑色素瘤等。

美国 BMS 公司生产紫杉醇的针剂有两种，一种为 30 mg/5 mL；一种为 100 mg/17 mL。我国生产的紫烷素为 30 mg/5 mL。由于紫杉醇在水中的溶解度很小（<0.001 mg/ mL），故注射剂中需加入助溶剂。每 1 mL注射液含有 6 mg 紫杉醇和 527 mg 的聚氧乙基化的蓖麻油（cremophor EL，polyoxyethylated castor oil）和 49.7%（体积分数）无水乙醇（dehydrated alcohol）。静脉滴注时，将紫杉醇用 0.9%氯化钠注射液或 5%葡萄糖注射液或 5%葡萄糖和 0.9%氯化钠注射液或含 5%葡萄糖的 Ringer's 注射液最后稀释含紫杉醇 0.3～1.2 mg/mL 进行静脉滴注。静脉滴注一般每三周给药 135 mg/m^2，在 3～5h 内恒速滴注。Taxotere 的剂量为 70～100 mg/m^2，也为静脉滴注，对乳腺癌、卵巢癌和肺癌均有效。

2. 紫杉醇的抗癌机制

紫杉醇独特的抗癌作用机制是[11]：它可以促进微管的聚合，抑制微管的解聚，导致肿瘤细胞的有丝分裂终止并使肿瘤细胞凋亡（apoptosis）。

紫杉醇催化微管蛋白迅速合成微管并结合到微管上起稳定和防止微管解聚的作用。这样，紫杉醇的活性就表现在两个方面：第一，对迅速分裂的肿瘤细胞，紫杉醇能冻结纺锤体的有丝分裂，从而使肿瘤细胞停止在 G_2 期和 M 期，直至死亡；第二，紫杉醇能抑制肿瘤细胞转移。

3. 紫杉醇的毒副作用

紫杉醇具有较强的毒副作用，如骨髓毒性、神经毒性对心脏及消化道的毒性反应和脱发等。在紫杉醇注射剂加入的助溶剂聚氧乙基化的蓖麻油（cremophor EL）极易引起过敏反应，故 24h 内只能使用 170 mg/m^2 的剂量。紫杉醇的毒性反应较大，在一定限度内限制了它的使用。

五、紫杉醇的构效关系

1）紫杉醇骨架的 6/8/6 骈合方式对活性十分重要，经处理变为 5/7/6 骈合方式后，促进微管聚合的作用降低，细胞毒性则完全丧失。不过近来也有报道认为变成 5/7/6 骈合方式后对活性的影响没有以前推测的那样大[12]。

2）紫杉醇 A 环 C-13 侧链的存在与其活性密切相关，去掉侧链后活性全丧失。同时 C-13 侧链的2′R/3′S 立体构型、3′位的酰胺取代都是活性所必需的，但是，3′位 N 上的末端取代对活性影响不是太大，2′位的羟基酰化后体外活性降低而对体内活性影响不大，是寻找前药的两个重要修饰点[13,14]。

3）紫杉醇 C-4、C-5 的四元氧环及 C-4 位的乙酰氧基取代都是紫杉醇抗癌活性所必需的，开环或去掉乙酰氧基后则活性完全丧失[16]。

4）紫杉醇 C-2 位苯甲酰氧基取代为其活性所必需，将它变为羟基或去掉苯甲酰氧基后的化合物细胞毒活性及微管活性均较紫杉醇大大降低[15]。

5）C-7 位羟基不是紫杉醇活性必需的，将其去掉、异构化、酰化、成苷、与 C-19 环合对活性影响很小，但

氧化后则活性完全丧失。骨架发生重排对活性影响较大，特别是C环重排为七元环时活性则完全丧失[17]。

6)紫杉醇C-9位酮基并非其抗癌活性必需的基团，被还原为羟基、二氢化合物仍会保持抗癌活性[18]。

7)紫杉醇C-10位乙酰氧基也不是其活性所必需，将它去掉、还原成为二氢化合物仍会保持活性[19]，但氧化为酮则活性全失[20]。

综上所述，对紫杉醇抗癌活性至关重要的位点是C-4、C-5位的四元氧环和乙酰氧基、C-13位的长侧链、C-2位的苯甲酰氧基。这三个位点可能是紫杉醇与受体的结合点。其他位置的取代只有在空间上或电子云密度上影响到这三个位点与受体的结合时才会引起活性的大幅度降低。C环重排为七元环后活性全失可能是影响到了C-4、C-5、C-20位的结合点，A/B环的重排物可能没有影响C-13、C-2的结合点而保留了抗癌活性。

六、紫杉醇的提取和分离

红豆杉属植物分布在北半球，为高大乔木，种群分布稀少，生长缓慢，属二类保护植物。因此，资源匮乏是紫杉醇生产中的一个大难点。除此外，它还有一个特点，就是紫杉醇在红豆杉树中含量低。紫杉醇在短叶红豆杉和生长在我国的三种红豆杉各部位的含量，可列于表8-3。

表8-3　紫杉醇在红豆杉属植物各部位的含量(单位：%)

品种	部位					
	皮	根	木	嫩枝	叶	种子
短叶红豆杉	0.015	0.004	0.0006	0.0017	0.0015	0.0058
云南红豆杉	0.018	0.0082	0.0034	0.0019	0.0011	0.01
美丽红豆杉	0.016	0.017	0.0025	0.0022	0.0025	0.012
东北红豆杉	0.042		0.009	0.0042	0.0039	

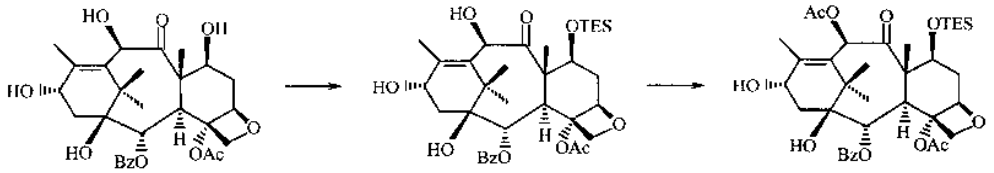
从表8-3看来，东北红豆杉的皮和叶中紫杉醇的含量都较高。开始制备紫杉醇时，都以皮为原料，但是皮的资源有限，且破坏生态环境，近来都采用叶做原料。目前有许多杂交种相继出现，树木的生长速度和紫杉醇的含量都有所提高，但仍不能满足生产所需，资源问题尚待解决。

紫杉醇在水中的溶解度很小，溶解于氯仿、二氯甲烷、乙酸乙酯、乙醇和甲醇。紫杉醇的提取方法一段是用乙醇或甲醇回流提取，然后用溶剂去除脂类，这种方法浸膏杂质多，生产成本高。若利用含有20%～50%水分的乙醇提取，再用活性炭处理，除去一部分蜡质、叶绿素，可减少提取液中杂质的含量。因为杉科植物中的蜡质，树脂较多，处理不好对以后分离带来许多困难。回收溶剂后，浸膏可用CH_2Cl_2-H_2O或$CHCl_3$-H_2O萃取，也可用乙酸乙酯-丙酮(1:1)混合液萃取效果较好，所得浸膏量减少，但浸膏中紫杉醇的含量增加多。若用甲醇提取则得浸膏，浸膏中紫杉醇的含量较多。萃取后的浸膏一般用CH_2Cl_2-MeOH、$CHCl_3$-MeOH、CH_2Cl_2-EtOAc或CH_2Cl_2-Me_2CO上硅胶柱进行梯度洗脱，可以得到包括紫杉醇在内的各种紫杉烷类化合物。也可用Sephadex LH-20、ODS等反相材料，分离效果较硅胶为好。

用硅胶柱，反相柱包括C_{18}柱，无论是常压和高压层析，所分离的紫杉醇均不是单一纯品。紫杉醇总是同Cephalomannine和7-epi-10-deacetyltaxol在一起，只有通过氰基或苯基柱或其他特殊的层析柱才能将它们分离开来。因此，高纯度的紫杉醇需要经过高效制备才能得到。

七、紫杉醇的半合成

紫杉醇的合成都是从10-deacetyl-baccatin Ⅲ(**5**)出发，由于紫杉烷的立体结构已知C_7-OH位阻最小，可用三乙基氯硅烷(TESCl)选择性的加以保护，位阻次之的C_{10}-OH可用醋酐酯化。C_1-OH受C-15上的偕二甲基的屏蔽不易酯化，不用保护。最后用具有光学活性的侧链与7-TES-baccatin Ⅲ(**17**)的C-13位羟基酯化，水解除去保护基后即得到紫杉醇，此方法已用于工业化生产。

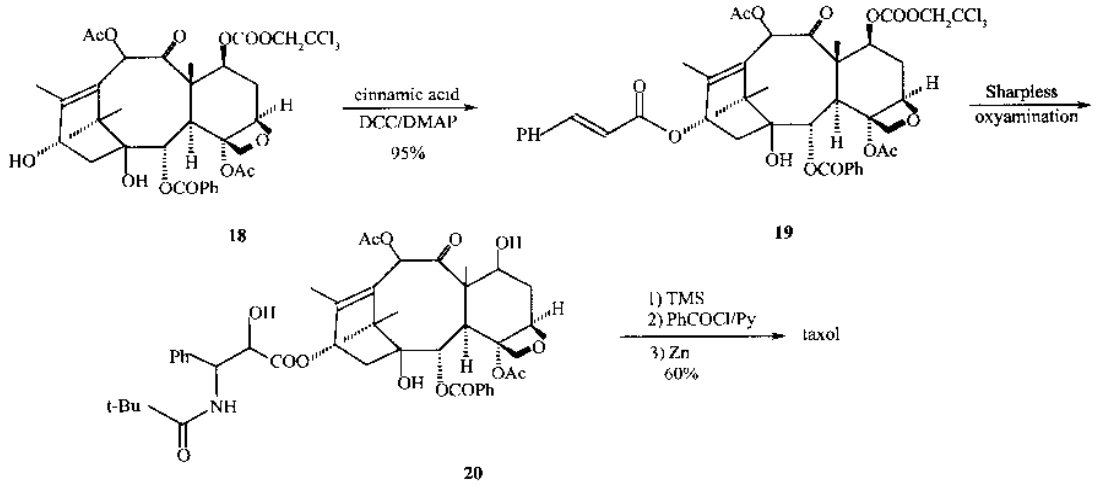


5 17

半合成的方法报道的很多，下面介绍四种方法。

1. Gueritte-Voegelein 半合成路线[21,22]

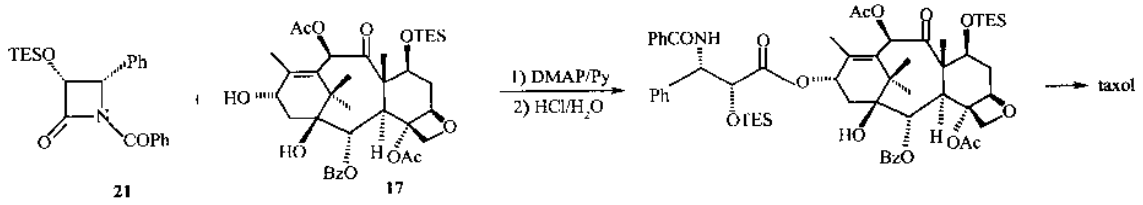
从 10-deacetyl-baccatin Ⅲ出发，用三乙基氯硅烷选择性保护 C-7 位羟基，然后用醋酐和吡啶酯化 C-10 位羟基，得化合物 **18**，然后用桂皮酸酯化 C-13 羟基，再进 Sharpless 羟氨化得化合物 **20**，最后得紫杉醇。



18 19 20

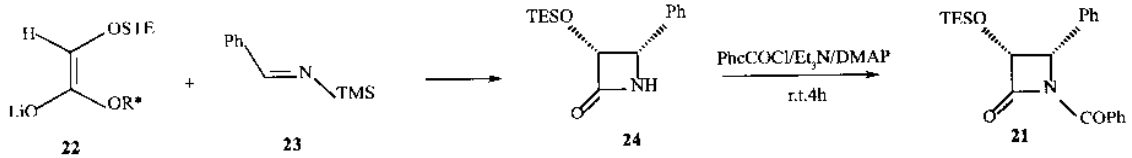
2. Holton 半合成路线[23~25]

利用顺式-1-苯甲酰基-3-三乙基硅氧基-4-苯基-氮杂环丁烷-2-酮(**21**)为原料与化合物 **17** 在 *N*-苯甲酰化的 2-吖啶酮作为酰化剂进行反应，条件温和，立体选择性高，合成获得紫杉醇。



21 17

化合物 **21** 是合成侧链的重要原料，化合物 **21** 的合成方法为：Ojima 等用手性酯烯醇锂(**22**)和 *N*-三甲基硅亚胺(**23**)进行不对称缩合环化，得到手性 β-内酰胺(**24**)，化合物 **24** 与苯酰氯反应得化合物 **21**[26]。

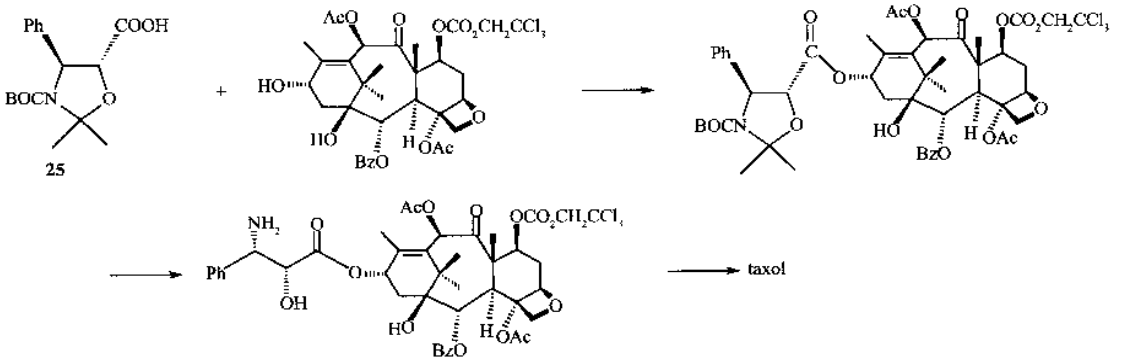


22 23 24 21

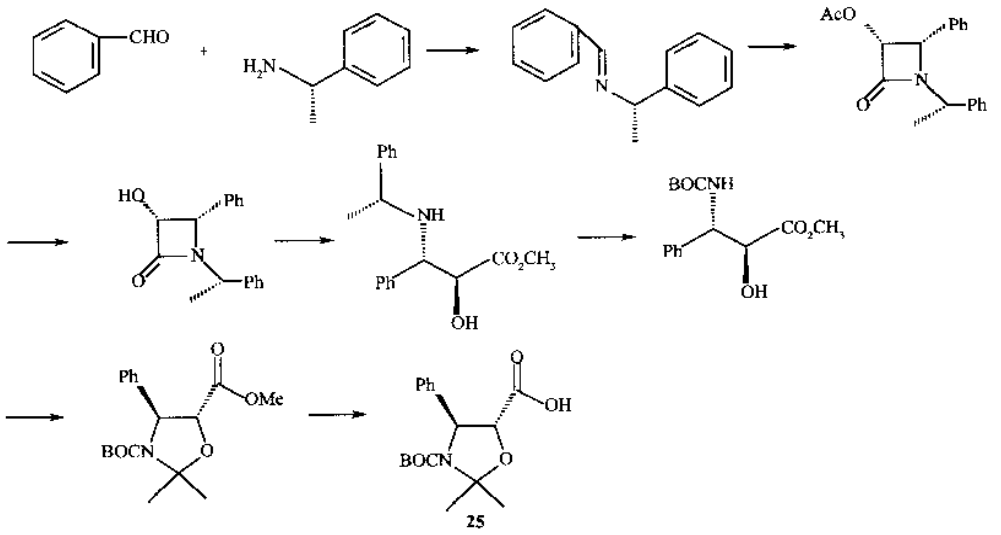
3. Didier 半合成路线[27,28]

Baccatin Ⅲ用氯甲酸-(β-三氯)乙酯选择地保护 C-7 位羟基，然后在 DCC 和 DMAP 作用下，将其 C-13 位

羟基用(4S,5R)-*N*-BOC-2,2-二甲基-4-苯基-5-唑烷羧酸(**25**)酯化,收率为98%,没有异构化,然后在甲酸作用下立体选择性开环、上保护基、酰化、去保护基后得到taxol。

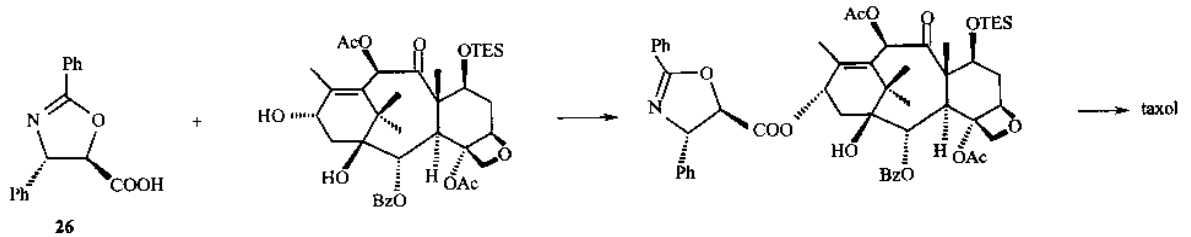


唑烷(**25**)的合成方法如下[29]:



4. Kingston 半合成路线[30]

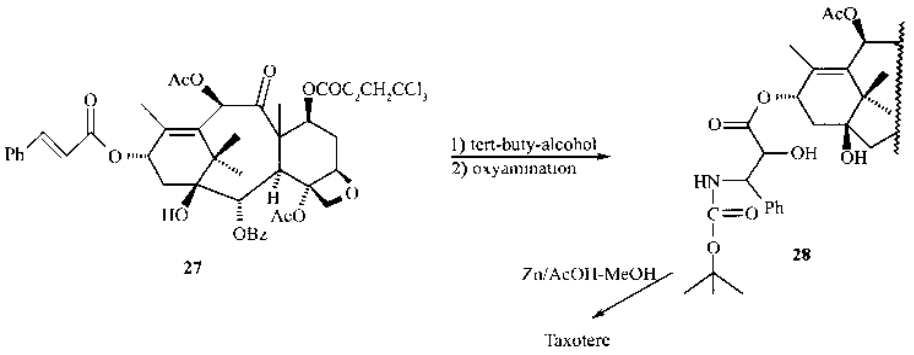
(4S,5R)-2,4-二苯基唑-5-羧酸(**26**)与7-TES-baccatin Ⅲ在DCC和PP条件下缩合,收率为95%,然后水解开环,得到taxol。



化合物**26**的合成方法可参考有关文献[31,32]。

八、Taxotere 的半合成路线

Mangatol等[22]用化合物**27**与特丁醇进行羟胺化得化合物**28**,经水解后得taxotere。



九、紫杉醇的全合成

紫杉醇的全合成经过多年的努力后，已取得成功。最先由 Holton 等[33,34]采用线性途径(图 8-5)，用倍半萜 pachiouleneoxide 以线性途径把分子一部分接一部分合成成功。得率为 4%～5%，合成品为(－)-taxol，而该路线合成的(＋)-taxol 也有效.

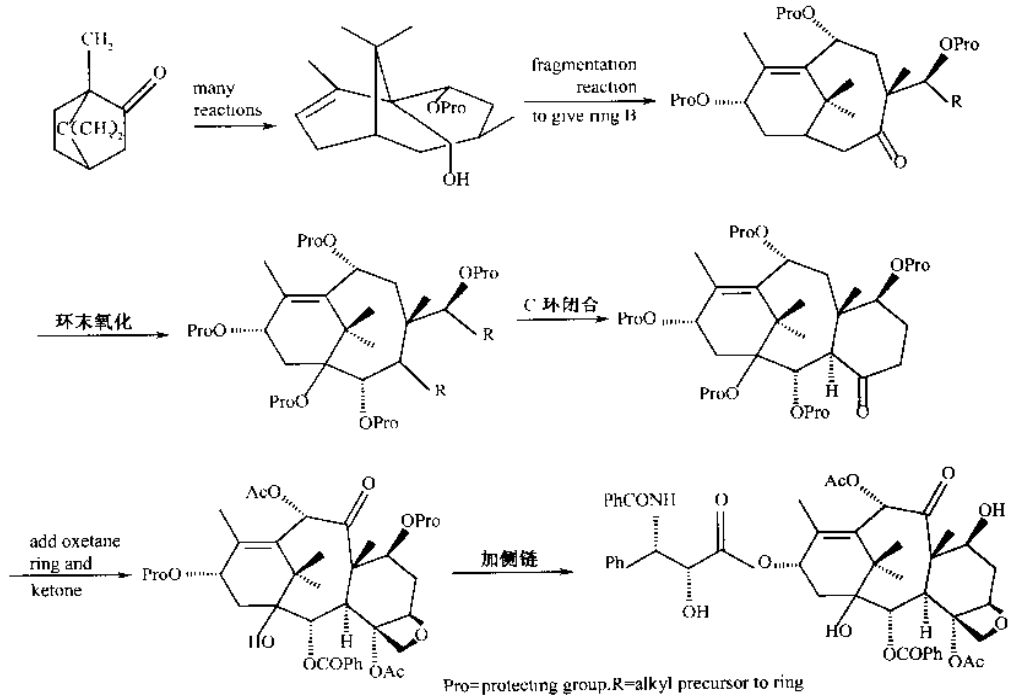


图 8-5 Holton 的线性合成路线

Nicoloan 等[35]采用“聚合式”法，合成原料为双环二酯醇通过 Diels-Alder 反应合成六元 A 环和 C 环，通过 Shapira 反应以低价钛偶联 McMurry 偶合反应关环，合成 B 环。然后再合成各取代基(图 8-6)。

Danishefsky 等[36]也用“聚合式”方式进行合成，总收率为 25%，详细见有关文献。

紫杉醇的合成成功，在合成上是巨大的成功。但因步骤太多，总收率太低，不能应用于工业生产，还需要进一步加以改进。

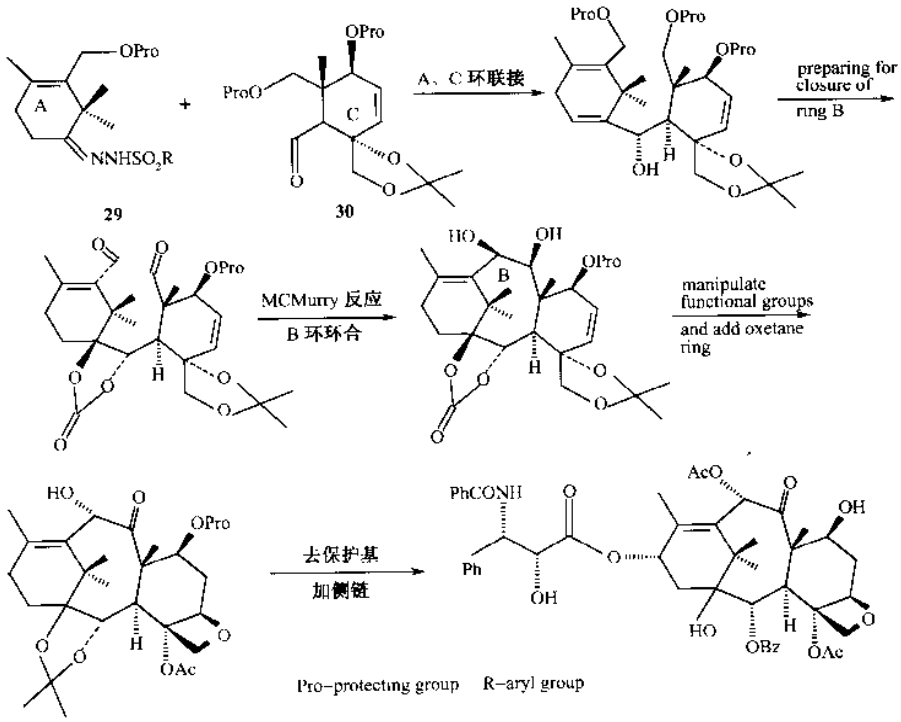
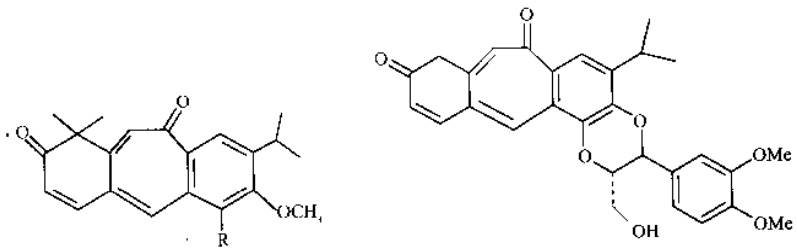


图 8-6　Nicoloan 的聚合合成路线

十、非紫杉烷二萜

从中国红豆杉分离出了一种有成卓酮的三环二萜，美丽红豆杉 A(taxamairin A)和美丽红豆杉 B(taxamairin B)[43]，并对 hepatoma 细胞有抑制作用(taxamairin A，IC_{50} 30.21 μg/ mL；taxamairin B，IC_{50} 26.78 μg/mL)。之后，它们相继在云南红豆杉等植物中被发现。继后，又从短叶红豆杉分离到 brevitaxin，也为卓酮二萜，也显示抗癌活性[43]。



taxamairin A　R=OH
taxamairin B　R=OCH_3

brevitaxin

十一、紫杉醇的光谱[37～40]

紫杉烷的^{1}H-NMR 的主要规律可归纳如下：

1)紫杉烷有四个甲基，C-18 甲基与双键相连，出现低场 δ 1.7～1.9。

2)9β-H 和 10α-H 呈 AB 四重峰，J = 8～12 Hz 之间。C-20 的亚甲基，若为 oxetane 环，δ 在 4.1～4.5 和 4.2～4.9 之间，J = 8 Hz。C-20 为环氧乙烷，δ 出现在 2.3～2.5 和 3.3～3.7 之间，J = 5 Hz。若为环外双键，δ 为 5.0～5.6 与 4.7～5.0 之间，J = 1～2 Hz。

3)3-H的 δ 在2.6～3.7之间,为紫杉烷的特征峰由于3α-H和2α-H的两面夹角成90°,若C-2α有取代,3-H呈双峰,若C-2β有取代则3-H呈单峰。若1-H未被取代,则2-H将由d峰变为dd峰或由单峰变为d峰,C-2为羟基取代,2β-H的 δ 为4.0～4.5,若羟基被酯化 δ 变为5.4～5.7。

4)C-13的信号大多为t峰或q峰。若C-13为羟基取代,δ 在4.3～4.6。若被酯化,δ 为5.8～6.1。此外,2α-H与3α-H两面夹角为90°外,1β-H与14α-H,5α-H与6β-H两面角也近90°。

5)7α-H的3α-H四重峰出现在 δ 4.0～4.5。

有关它们的数据见图8-7,图8-8和表8-4。

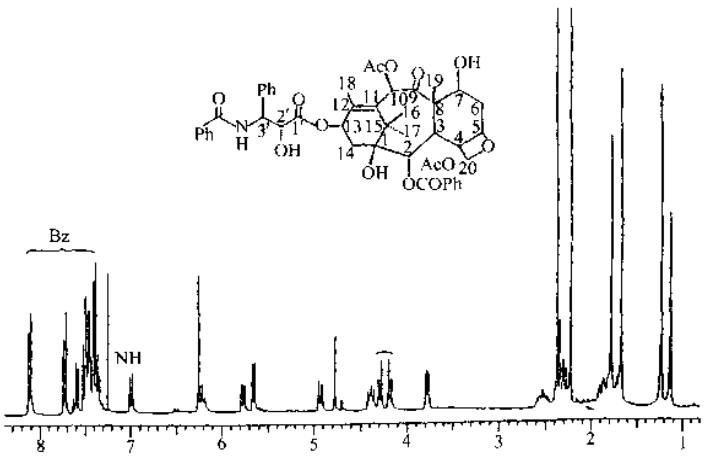


图8-7 紫杉醇的^{1}H-NMR谱

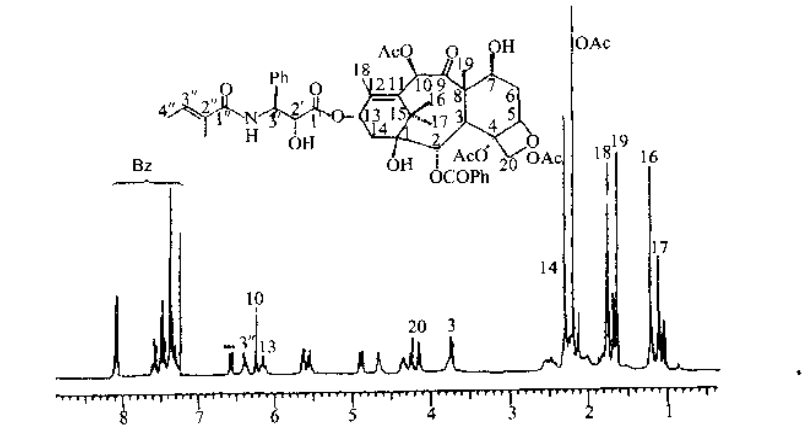


图8-8 cephalomnnine ^{1}H-NMR图

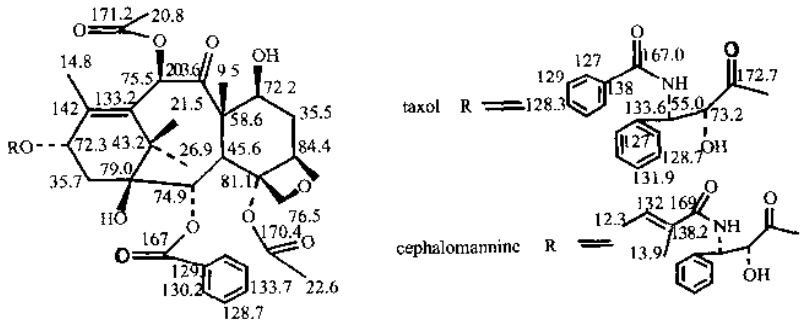


表 8-4　紫杉醇及其衍生物的氢谱数据(in $CDCl_3$, TMS as internal standard, 500 MHz)

H	taxol	cephalomannine
C-2	5.67(d,7.1)	5.67(d,7.3)
C-3	3.79(d,7.0,)	3.77(d,7.3)
C-5	4.94(ddt,9.6,2.3,1)	4.92(dd,9.6,1.8)
C-6α	2.54(ddd,14.8,9.7,6.7)	2.53(ddd,14.5,9.5,6.4)
C-6β	1.88(ddd,14.7,11.0,2.3)	1.86(ddd,15.0,10.6,2.1)
C-7	4.40(ddd,10.9,6.7)	4.36(m)
C-10	6.27(s)	6.24(s)
C-13	6.23(qt,9.0,1.5)	6.19(brt)
C-14α	2.35(dd,15.4,9.0)	2.32(dd,15.1,9.3)
C-14β	2.28(ddd,15.3,9.0,0.6)	2.22(ddd,15.0,9.3,0.6)
C-16-Me	1.14(s)	1.25(s)
C-17-Me	1.24(s)	1.13(s)
C-18-Me	1.79(d,1.5)	1.78(s)
C-19-Me	1.68(s)	1.67(s)
C-20α	4.30(ddd,8.4,1.1,0.8)	4.27(d,8.9)
C-20β	4.19(dd,8.5,1.0)	4.18(d,8.9)
C-2′	4.78(dd,2.7)	4.70(brs)
C-3′	5.78(dd,8.9,2.8)	5.60(dd,9.4,2.9)
3′-NH	7.01(d,8.9)	6.48(d,10.9)
OBz(ortho)	8.13(dd,8.4,1.3)	8.10(dd,8.1,1.5)
OBz(meta)	7.51(m)	7.49(t,8.0)
OBz(para)	7.61(tt,7.4,1.4)	7.59(tt,8.0,1.5)
3′Ph(ortho)	7.48(m)	7.4(m)
3′Ph(meta)	7.42(cm)	7.4(m)
3′Ph(para)	7.35(tt,7.3,1.6)	7.4(m)
NBz(ortho)	7.74(dd,8.3,1.2)	
NBz(meta)	7.40(m)	
NBz(para)	7.49(m)	
1-OH	1.98(bs)	
7-OH	2.48(br s)	
2′-OH	3.61(br s)	
4-OAc	2.38(s)	2.32(s)
10-OAc	2.23(s)	2.20(s)
C-2″-Me		1.78(brs)
C-3″		6.37(d,7)
C-4″-Me		1.70(d,7)

十二、研 究 实 例

1. 1-dehydroxy-baccatin VI(31)的结构鉴定[41]

化合物 **31** 熔点 220～221℃,高分辨质谱测得相对分子质量 698.2929(M^+),计算其分子式为 $C_{37}H_{46}O_{13}$(计算值 698.2939)。UV λ_{max}(lgε)nm 230(4.16),IR(KBr)737 cm^{-1}、1713 cm^{-1}、1602 cm^{-1}、1584 cm^{-1}、1455 cm^{-1}表示化合物 **31** 含有羰基,苯甲酰基。化合物 **31** 的氢谱显示有紫杉烷的四个甲基信号,δ 1.11(17-CH_3)、1.56(19-CH_3),1.85(16-CH_3)和 1.98(16-CH_3)。在 δ 2.02～2.28 范围内有五个乙酰基的信号,在 δ 7.44～8.11 范围内有五个芳氢信号。化合物 **31** 的氢谱中 δ 4.25(1H,d,J=8.2 Hz)和 δ 4.10(^{1}H,d,

J=8.2 Hz)组成的 AB 系统,为位 C-5 和 C-4 的四元含氧环中的亚甲基信号,该信号与具有 oxetane 的紫杉烷或称与 baccatin 型紫杉烷的特征信号相一致,由此证明化合物 **31** 为含五个乙酰基,一个苯甲酰基的 baccatin 型紫杉烷二萜。参照这类紫杉烷二萜的氢谱,结合^{1}H-^{1}HCOSY 谱的分析,可将化合物 **31** 的氢谱中的质子及取代基作如下归属[42]:δ 5.98(1H,d,J=11.2 Hz)和 6.18(1H,d,J=11.2 Hz)组成的 AB 系统为 9-H 和10-H的信号,根据 **31** 的 Dreiding 分子模型,只有呈反式直立键的 9β-H 和 10α-H 的两面夹角(θ=180°)才能出现近 11 Hz;反之,若为 9α-H 和 10β-H 的构型,其两面交角只能达到 60°,偶合常数应较小。由于化合物 **31** 的分子模型扭动性有限,出现其他形式的构型将不可能。因此,在 9α 位和 10β 位分别取代有一个乙酰基。δ 2.40(1H,ddd,$J_{14\alpha,14\beta}$=15.1 Hz,$J_{14\alpha,13\beta}$=8.3 Hz,$J_{14\alpha,1\beta}$=10.9 Hz)为 14β-H 的信号,δ 1.96 (1H,dd,$J_{14\alpha,14\beta}$=15.1 Hz,$J_{14\alpha,13\beta}$=8.3 Hz,$J_{14\alpha,1\beta}$=1.64 Hz)为 14α-H 的信号。δ 5.92(1H,t,$J_{13\beta,14\alpha}$=8.3 Hz,$J_{13\beta,14\beta}$=8.3 Hz)为 13β-H 的信号,根据 13β-H 的化学位移和它们之间的偶合常数可知在 C-13α 位有一个乙酰基取代,同已知化合物相比,δ 5.55(1H,dd,$J_{7\alpha,6\alpha}$=9.7 Hz,$J_{7\alpha,6\beta}$=8.0 Hz)为 C-7 质子信号,由 7-H 和6-H之间的偶合常数可知 7α-H 的信号,证明 C-7β 位被乙酰基所取代。δ 2.98(1H,d,$J_{3\alpha,2\beta}$=5.9 Hz)为紫杉烷二萜 3α-H 的特征信号峰[42]。该信号为双峰,这是因为 C-4 无质子存在,2α-H 与 3α-H 的两面夹角成 90°之故。1-H 与 14β-H 和 2-H 分别偶合呈四重峰,这是因为 1β-H 与 14α-H 的两面夹角成 90°,说明了 C-1 质子的存在并为 β 构型。2-H 位于 δ 5.85(1H,dd,$J_{2\beta,3\alpha}$=5.9 Hz,$J_{2\beta,1\beta}$=1.9 Hz),呈四重峰,证明 2-H 与 1-H 和 3α-H 分别有偶合。若 2β-H 存在,2α-H 被取代或存在时,2β-H 应呈四重峰,若 2α-H 存在,2β-H 被取代,2α-H 应呈双峰,从化合物 **31** 的氢谱中,可知 2-H 应呈四重峰,δ 为 5.85,说明 C-2α 位有取代基存在,该化学位移较有 C-2α 乙酰基取代的紫杉烷为低,C-2α 位有苯甲酰基取代较为合理,剩下来惟一的一个乙酰基只能取代在 C-4α 位。由于 5α-H 和 6β-H 的两面夹角成 90°,5α-H 与 6-H 的偶合应为双峰;若为 5β-H 应为四重峰。实测发现 δ 4.98(1H,d,$J_{5\alpha,6\alpha}$=8.6 Hz,$J_{5\alpha,6\beta}$=0 Hz)为双峰,证明 5-H 为 α 构型。为此,化合物的结构可以写为 1-去羟基-巴苦亭-Ⅵ(1-dehydroxy-baccatin Ⅵ,**31** 图 8-9)。

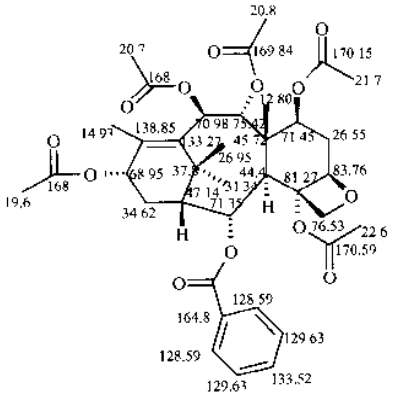


图 8-9 1-dehydroxy-baccatin Ⅵ(**31**)的结构和^{13}C-NMR 谱数据

2. taxayuntin F (32)的结构鉴定

化合物 **32** 为无色方晶,FAB-MS 给出分子离子峰 m/z 631 $[M+H]^+$ 及失去一分子水的峰 m/z 613 $[M+H-H_2O]^+$,分子式为 $C_{33}H_{42}O_{12}$,相对分子质量为 630。薄层板上香草醛浓硫酸显色呈现墨绿色,由于该化合物的极性较大,推测可能含有较多的游离羟基。该化合物常温下^{1}H-NMR 信号分辨不清,裂分不明显,提示该化合物可能为 abeo 紫杉烷类化合物。根据文献报道,我们做了该化合物在 −10℃时的氢谱,图谱表明该化合物在 −10℃时存在构象互变现象(图 8-10),但裂分清晰,易于识别。从信号的积分比例上看,B 环扭船式构象与 B 环扭椅式构象的比例为 3∶1。下面将主要解析 B 环扭船式构象的氢谱(表 8-5)来确定化合物 **32** 的结构。

δ 3.13 为紫杉烷 3-H 的特征峰由^{1}H-^{1}HCOSY 谱知,δ 3.13(J=7.5 Hz)与 δ 5.92(J=7.5 Hz)相偶合,说明 δ 5.92 为 2-H$_\beta$ 的信号,且 C-2 为氧酰基所取代。典型的四个甲基信号为 δ 1.70、1.20、1.94 和 1.00

处。δ 4.41(J = 7.7 Hz)和 4.49(J = 7.7 Hz)为 H-20α 和 H-20β 的偕氢信号，证明化合物 **32** 具有 oxetane 环，加上在常温下氢谱出现 abeo 紫杉烷常见的形状，故知化合物 **32** 为具有 oxetane 环的 abeo 紫杉烷化合物。

^{1}H-NMR 中，δ 2.14、2.02、1.77 处三个强而尖锐的单峰信号揭示了三个乙酰氧基的存在，其中一个为 abeo 紫杉烷型骨架上 4 位的乙酰氧基。一个苯甲酰基的存在则被下列信号所证实：δ 7.97(2H, d, J = 8.0 Hz)，7.42(2H, m)，7.54(1H, m)。δ 4.65 和 4.49 处骨架氢的信号提示该化合物有两个羟基取代。因此化合物 **32** 为 abeo 型紫杉烷骨架上有三个乙酰氧基、一个苯甲酰氧基、两个羟基取代的化合物。

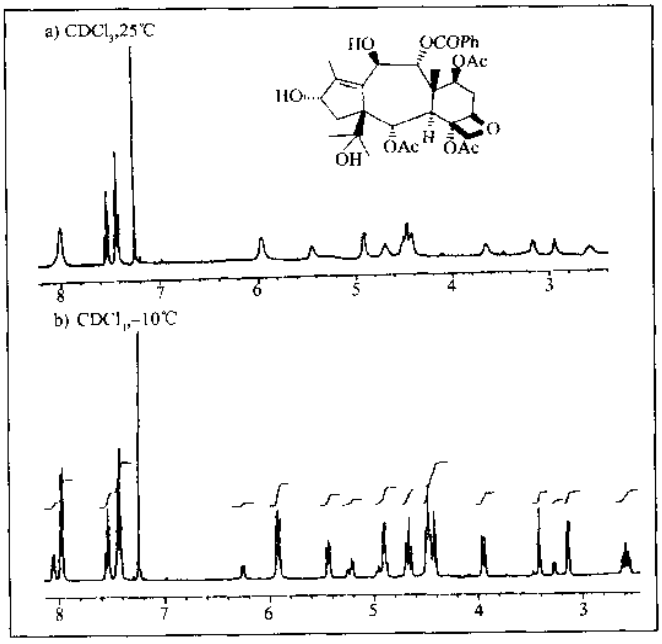


图 8-10　taxayuntin F 的氢谱图

表 8-5　taxayuntin F 的氢谱数据(－10℃，$CDCl_3$，400MHz，TMS)

质子	^{1}Hδ	^{1}H-^{1}H COSY	质子	^{1}Hδ	^{1}H-^{1}H COSY
2-H	5.92d(J = 7.5 Hz)	3-H	19-Me	1.00s	
3-H	3.13d(J = 7.5 Hz)	2-H	20α-H	4.41d(J = 7.7 Hz)	20β-H
5-H	4.90d(J = 6.1 Hz)	6α-H	20β-H	4.49d(J = 7.5 Hz)	20α-H
6α-H	2.59ddd(J = 15.9, 7.6, 8.2 Hz)	6β-H, 5-H, 7-H	OAc		
6β-H	1.80dd(J = 15.9, 5.5 Hz)	6β-H, 7-H		2.14s	
7-H	5.43dd(J = 8.4, 5.7 Hz)	6α-H, 6β-H		2.02s	
9-H	5.90d(J = 10.2 Hz)	10-H		1.77s	
10-H	4.65d(J = 14.6, 6.6 Hz)	9-H	OBz		
13-H	2.14overlap	14α-H, 14β-H	o-H	7.97d(J = 8.0 Hz)	m-H
14α-H	1.70s	14β-H, 13-H	m-H	7.42m	o-H, p-H
14β-H	1.20s	14α-H, 13-H	p-H	7.54m	o-H, m-H
16-Me	1.94s		10-OH	3.94d(J = 10.8 Hz)	10-H
17-Me			13-OH	4.48overlap	
18-Me			15-OH	3.41s	

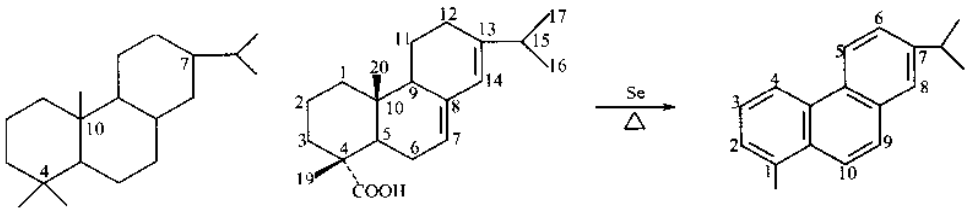
由氢谱知化合物 **32** 存在三个乙酰基 δ 为 2.14、2.02 和 1.77 信号，一个苯甲酰基和三个羟基信号。

13-H的 δ 为 4.47，信号位于高场说明为羟基。取代另一个羟基位于 C-15。

由 ^{1}H-^{1}H COSY 谱知 δ 4.65(d，J = 10.2 Hz)和 5.90(d，J = 10.2 Hz)相互偶合，为典型的 9-H 和 10-H 信号。δ 4.65 信号处于高场。说明未被酰化，为羟基取代。由文献知，该信号为 10α-H，羟基位于 C-10 位。四个酰基应位于 C-2、C-4、C-9 和 C-7 位。其中一个乙酰基 δ 为 1.77 位于高场，一定处于苯酰基的正屏蔽区，即它与苯甲酰基相邻。若苯甲酰基位于 C-2 位，从紫杉醇的氢谱知，C-2 的苯甲酰基对 C-4 的乙酰基信号没有屏蔽效应，这种高场乙酰基的信号不会出现。因此，合理的解释应为 C-2 和 C-4 分别为乙酰基取代。C-9 位或 C-7 位分别为一个乙酰基或苯甲酰基取代。最后用 HMBC 证明苯甲酰基位 C-9 位。C-7 位为乙酰基取代。化合物 **32** 的结构证明为 taxayuntin F。

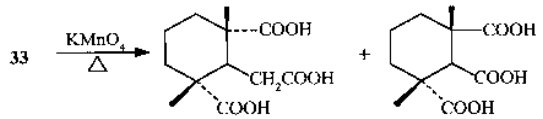
第二节 松香烷二萜

松香烷(abietane)二萜为三环二萜，它的基本骨架为氢化菲(hydro-phenanthrine)，C-4 位存在一个偕二甲基，C-7 位有一个异丙基，C-10 位存在一个角甲基。从松香分离得到的松香酸(abietic acid，**33**)和硒加热，经脱氧反应，生成 1-甲基-7-异丙基菲(retene，**34**)证明了其母核。



松香烷　　**33**　　**34**

对化合物 **34** 进一步降解，并对化合物 **34** 进行合成，证明了松香烷在 C-4 位为烷基取代，C-13 位存在一个异丙基。将化合物 **33** 在高锰酸钾强烈的氧化下，分别获得化合物 **35** 和 **36**。从化合物 **35** 和 **36** 进一步证明松香烷化合物 **33** 的 C-10 位存在一甲基，C-4 有一个甲基和羧酸存在。



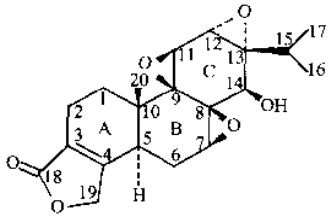
35　　**36**

天然界存在的松香烷二萜，由于其脱氢或氧化的程度不一样，产生了多种松香烷二萜。从现在发现的松香烷二萜来看，氧化程度愈高的松香烷二萜，它们的生理活性显得愈强烈。例如，从雷公藤分离的雷公藤二萜，具有强烈的抑制免疫和抗炎作用。

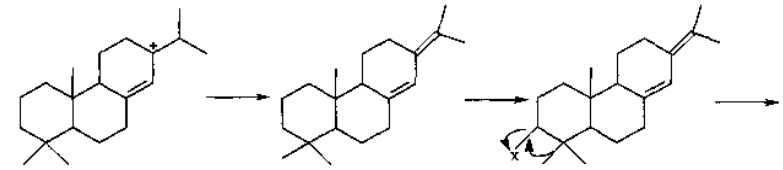
一、雷公藤二萜

存在于卫矛科植物雷公藤(*Tripterygium wilfordii* Hook)中的二萜化合物，主要是松香烷二萜。其中具有 α，β-不饱和 γ-内酯和环氧的二萜，呈现很强的抗炎和免疫抑制的生理活性。1972 年，Kupchan[44] 首次从雷公藤中分离得到具有生理活性的雷公藤内酯醇(雷公藤甲素，triptolide，**37**)，雷公藤内酯二醇(雷公藤乙素，tripdiolide，**38**)。近 20 年来，雷公藤的制剂在临床上广泛应用来治疗类风湿性关节炎、肾脏疾病、红斑狼疮、多发性硬化症及应用在器官移植等方面，都得到较好的疗效。从雷公藤及同属植物中分离得到的二萜化合物 40 余个，其中含量较高、活性较好的被认为是雷公藤内酯醇[45]。

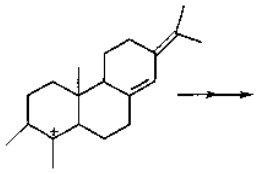
雷公藤二萜属于 A 环重排的松香烷二萜，又称 triptolidane，它是由 C-4 位的偕二甲基经过重排而形成 3,4 位邻位甲基，进一步成环形成内酯环，并氧化为化合物 **37**。



雷公藤内酯醇（雷公藤甲素，37）



abietane type

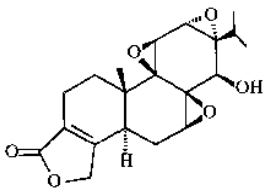


troptolidane

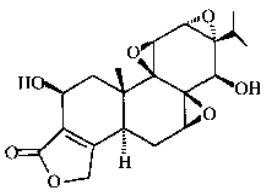
triptolide (37)

1．雷公藤二萜的结构

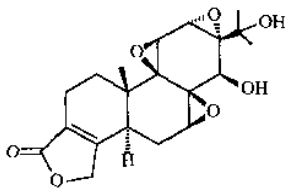
从雷公藤属植物中分离出来的二萜化合物，主要是松香烷二萜，显示抗炎和免疫抑制的生理活性的都是具有 α,β-不饱和-γ-内酯和环氧的松香烷二萜。已有生理活性报道的单体有雷公藤内酯醇(**37**)、雷公藤内酯二醇(**38**)、雷公藤内酯(triptolidenol，**39**)、16-羟基雷公藤内酯醇(16-hydroxytriptolide，**40**)、雷公藤内酯酮(triptonide，**41**)、雷公藤内酯三醇(triptriolide，**42**)、雷公藤氯内酯(tripchlorolide，**43**)，从这些化合物的结构可知，它们的 A/B 环均为反式骈环，其 CD 谱，在 250nm 附近呈现负的 Cotton 效应。B/C 环为顺式骈环，α,β-不饱和-γ-内酯位于 A 环的 $C_{3,4}$处。B 环具有一个 $C_{7,8}$环氧，C 环具有两个环氧，$C_{9,11}$环氧和 $C_{12,13}$环氧。近来，也发现环氧数目小于三个的二萜化合物[46,47]。



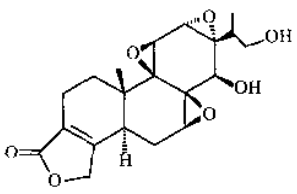
triptolide (37)



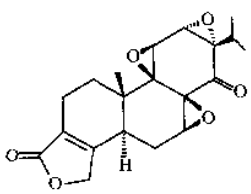
triptolide (38)



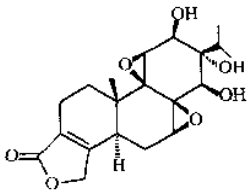
triptolidenol (39)



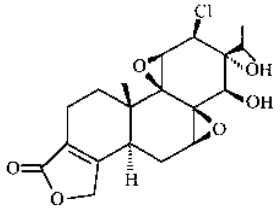
16-hydroxytriptolide (40)



triptonide (41)



triptriolide (42)



tripchlorolide (43)

2. 雷公藤二萜的生理活性

(1)抗炎作用

雷公藤的各种制剂，包括片剂、提取物、微粒胶囊，以及雷公藤多苷片(GTW，雷公藤经水提，提取液再经氯仿萃取，通过层析柱制备后，得到的一种制剂)均显示良好的抗炎作用。各种单体化合物的抗炎作用可见表 8-6。从表 8-6 上可知化合物抗炎作用由大至小的顺序为：**42＞37＞39＞43＞38＞40＞41**[48,49]。

(2)免疫抑制作用

表 8-6 七个雷公藤二萜的抗炎和抑制免疫作用的比较

化合物	LD_{50}(i.g.) /(mg/kg)	ED_{50}(i.p.)/(mg/kg)		TI(i.p.)		CSF(i.p.)	
		AIA	ISA	AIA	ISA	AIA	ISA
雷公藤内酯醇 triptolide(37)	0.94	0.05	0.06	17.0	13.7	4.3	3.5
雷公藤内酯二醇 tripdiolide(38)	0.80	0.09	0.08	7.3	8.8	1.4	2.5
雷公藤内酯 triptolidenol(39)	3.26	0.30	0.09	9.6	30.7	1.4	7.2
16-羟基雷公藤内酯醇 16-Hydroxytriptolide(40)	0.92	0.12	0.05	6.6	15.8	1.3	3.6
雷公藤内酯酮 triptonide (41)	5.68	0.87	0.68	5.9	7.5	1.7	2.5
雷公藤内酯三醇 triptriolide (42)	＞500	26.70	—	＞19	—	—	—
雷公藤氯内酯 tripchlorolide (43)	1.65	0.15	0.08	9.0	16.7	1.7	5.1
雷公藤多苷片 GTW	156.3	15.70	7.90	8.5	16.8	1.4	4.7

注：TI 为治疗指数，CSF 为安全指数，AIA 为抗炎活性，ISA 为免疫抑制活性，GTW 为雷公藤多苷片。i.g.为灌胃给药，i.p.为腹腔注射。

雷公藤各种制剂对体液免疫和细胞免疫均有抑制作用。有增强肾上腺皮质功能的作用，对变态反应，自身免疫性疾病有良好效果。六个化合物的免疫抑制作用为：**39＞43＞40＞37＞38＞41**[48,49]。

由表 8-6 所列的数据可知，化合物 **42** 仅具有抗炎作用，其余各化合物包括 GTW，都同时具有抗炎和免疫抑制两种作用，抗炎作用最强的为化合物 **42**，免疫抑制作用最强的为化合物 **39**，雷公藤内酯醇(**37**)的抗炎作用和免疫作用都较强。这些活性都是临床上治疗类风湿性关节炎，系统性红斑狼疮、肾病等疾病的药理基础[49,50]。

(3)雷公藤所含的化合物的抗肿瘤、抗 HIV、抗异体排斥和抗生育等作用

可查有关文献[48－51]。

(4)副作用

雷公藤二萜由于毒性较大，除了化合物 **42** 和 GTW 外，其余的 LD_{50}都比较小，雷公藤内酯醇口服的 $LD_{50}=(1.195\pm0.204)$ mg/kg，属于剧毒，从安全指数(CSF)来看，都大于 1，但是都不是很大，1%致死量(LD_1)与 99%有效剂量(ED_{99})比较接近，安全范围小。用药时一定要严格计算剂量给药。在临床上毒性表现在肾衰，皮肤过敏，白细胞、红细胞及血小板减少、恶心、呕吐、头晕、乏力、心悸和胸闷等症状。严重的可导

致死亡[48,49]。

3. 雷公藤二萜的结构分析[52]

利用X衍射分析和SYBYL分子图形学分析，获得雷公藤二萜精细立体结构，得出下面的结论：

(1)雷公藤内酯醇(37)和雷公藤内酯二醇(38)的结构比较

化合物**37**与化合物**38**相比较，除了化合物**38**为C_2-OH的取代外，其他部分的结构完全相同。在分析X衍射提供的晶态结构时发现两个化合物在C-15位上的异丙基的构象存在差异，化合物**37**和化合物**38**的异丙基上的两个甲基取向正好相反(图8-11)。



图8-11　化合物**37**与**38**分子结构图

(2)雷公藤内酯醇(37)和雷公藤氯内酯(43)的结构比较

化合物**37**与化合物**43**的分子结构差异较大。立体结构分析表明，两个分子异丙基取向相反，而化合物**43**与化合物**38**，雷公藤内酯酮**41**的异丙基取向一致。利用分子力学方法对化合物**43**分子进行结构优化，获得分子自由态下优势结构，其异丙基取向仍然与化合物**37**相反。

雷公藤氯内酯(**43**)与雷公藤内酯三醇(**42**)相比较，发现虽然两个分子结构的差异表现在C-12位上的取代基，化合物**43**为Cl，化合物**42**为OH，但精细立体结构分析表明，两个分子异丙基取向相同。

(3)构象分析

雷公藤二萜内酯化合物在结构上有很大的特殊性，首先是分子中有环氧结构，这种结构要求六元环上sp^3杂化碳原子的键角由正常的109°变为60°左右，键长缩短到约1.46Å，因此环的张力很大。同时，五元内酯环的结构也存在较大的张力。此外，在C-15位上异丙基团在空间存在两种构象，但分子却能够稳定地存在。这表明，雷公藤二萜内酯分子的构象差异与它们的各种生理活性有着确定的联系。

4. 雷公藤二萜的构效关系

雷公藤的构效关系，以雷公藤内酯醇(**37**)作为先导化合物，它的构效关系[47,52,53]如下：

1)$C_{12,13}$的α型环氧基，是影响免疫抑制，雄性抗生育和毒性等生理活性的重要基团，当C-12和C-13引入邻位羟基后，只显示明显的抗炎活性。例如，雷公藤内酯三醇(**42**)存在C_{12}-βOH和C_{13}-αOH，只显现抗炎活性，免疫抑制活性消失。C_{12}-OH为α构型的化合物**44**其抗炎活性较β型的化合物**42**高**1**倍。C-12引入氯原子后，毒性明显下降。

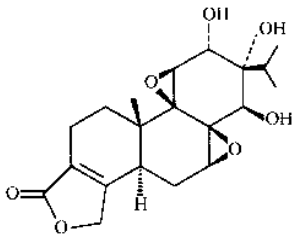
2)C_{14}-OH被氧化成酮，即为雷公藤内酯酮(**41**)，其抗炎和免疫抑制活性，明显下降，C_{14}-OH被乙酰化后活性也很弱，C_{14}-OH是极为重要的活性基团。

3)C-2被羟基取代，抗炎，免疫抑制，抗肿瘤活性均下降，毒性有所增加。C-15的异丙基若有羟基取代，抗炎活性和毒性均下降。

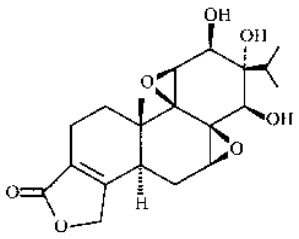
4)γ-内酯的羰基和三个环氧与抗肿瘤活性有关。

5. 雷公藤二萜的结构修饰[54,55]

雷公藤内酯醇(**37**)在雷公藤植物中含量最高，也具有较强的免疫抑制和抗炎活性，但化合物其毒性较大(LD_{50}=0.94 mg/kg)，当略高于抗炎和免疫的99%有效剂量时，会产生明确的突变作用。若将化合物**37**经过HCl作为选择性进攻试剂，在吡啶下，带负电荷的Cl^-从β面进攻化合物**37**的$C_{12,13}\alpha$位环氧基团，首先进攻C-12位处的正电性碳，可使α型环氧开环，并在C-12的β位引进氯离子，C-13的α位形成α-羟基，从



12-epitriptrolide (44,AIA=40)



triptriolide (42,AIA>19)

而获得雷公藤氯内酯(**43**),得率为91%。化合物**43**的毒性较低(LD_{50} = 1.65 mg/kg)。化合物**37**上的$C_{7,8}$和$C_{10,11}$的环氧由于位组较大,两个β型的环氧不受影响。也可以用溴化氢作为进攻试剂,最后产物生成雷公藤溴内酯醇(tripbromolide,**45**),化合物**43**和**45**的免疫抑制活性与雷公藤内酯醇(**37**)相近似,但毒性较低。

雷公藤内酯酮(**41**)在C-14有一个酮基,因此免疫抑制和抗炎活性都较低。若用$NaBH_4$进行还原,但得率仅22%的化合物**37**和68%的14-表雷公藤内酯醇(14-epitriptolide,**46**),化合物**46**可以在铬酸的氧化下转为化合物**41**,得率可达77%。化合物**41**再重复还原转为化合物**37**(图8 12)。

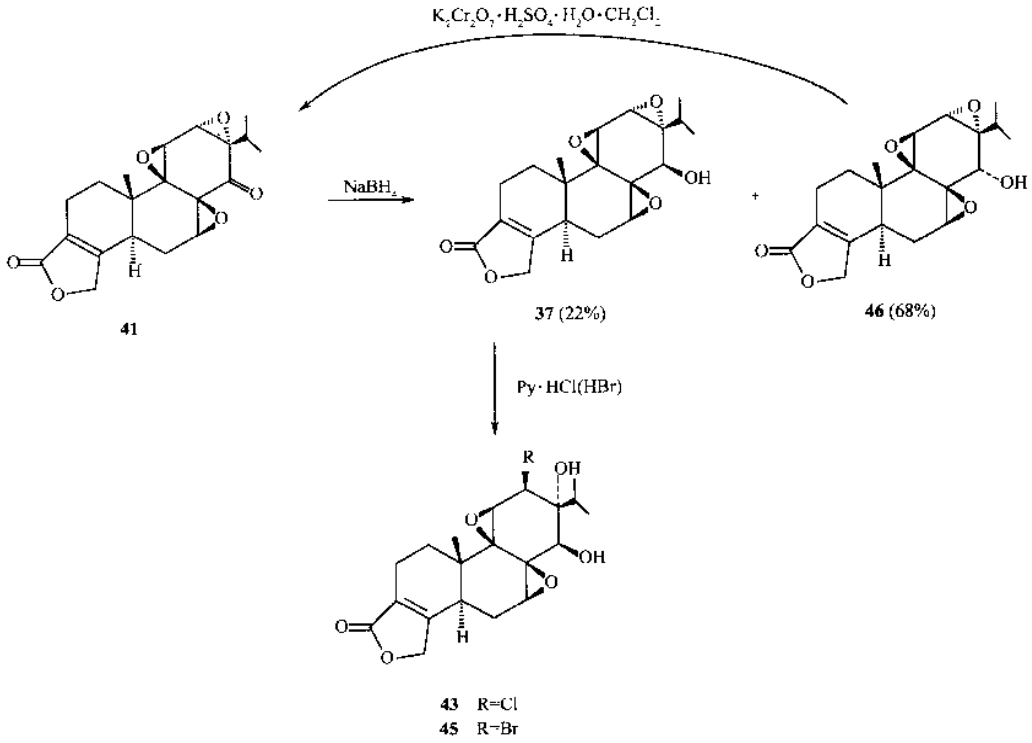


图 8-12

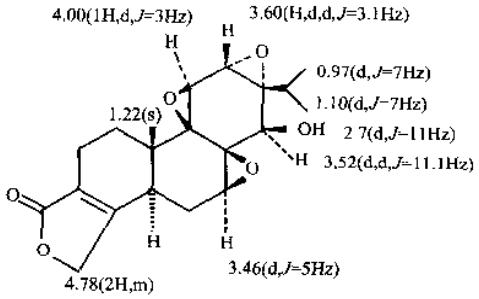
6. 雷公藤内酯醇的全合成

雷公藤内酯醇的合成有Berchtold和Tamelen两种方法,详细步骤可参阅有关文献[56]。

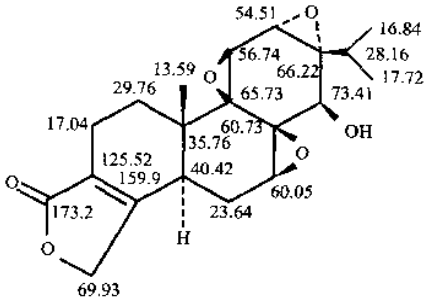
7. 雷公藤二萜醇的光谱

雷公藤内酯醇的氢谱和碳谱数据如图8-13所示。

新雷公藤内酯四醇(neotriptetraolide)是从雷公藤的根分离的一个新化合物,它的C-7和C-8分别存在一个羟基,而不是环氧结构,其^1H-^1HCOSY、NOE相关关系及X射线衍射的分子结构如图8-14、图8-15和图8-16[95]。

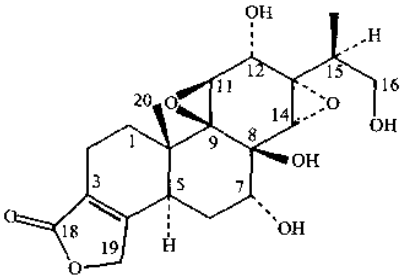


雷公藤内酯醇（37）的氢谱数据（$CDCl_3$）



雷公藤内酯醇（37）的碳谱数据（$CDCl_3$）

图 8-13



新雷公藤内酯四醇（neotriptetraolide）

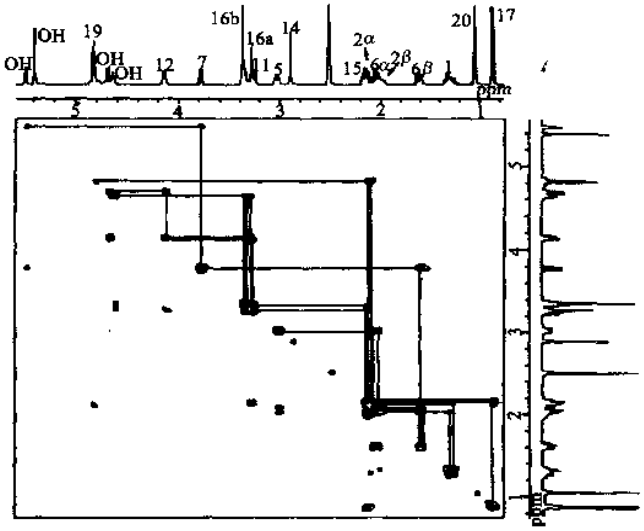


图 8-14　新雷公藤内酯四醇的^1H-^1HCOSY 图（DMSO-d_6）

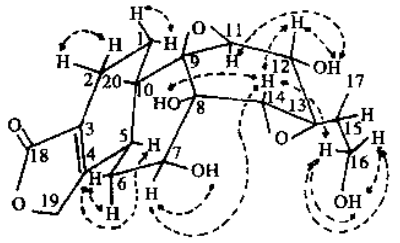


图 8-15 新雷公藤内酯四醇的 NOE 相关关系图

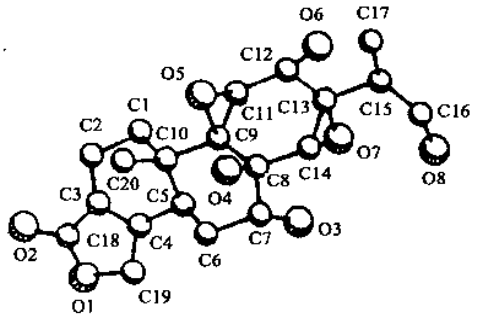
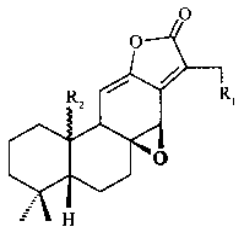


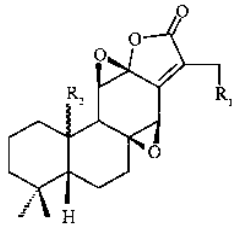
图 8-16 新雷公藤内酯四醇的 X 射线衍射分子结构图

二、大戟属等植物中的松香烷二萜

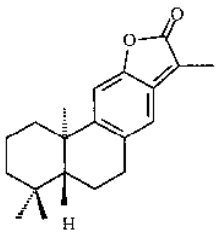
松香烷二萜在多种大戟属植物中存在，大戟属的松香烷二萜存在的 α,β-不饱和-γ-内酯位于 $C_{12,13}$之间，有的存在有环氧基，属于 C 环重排的松香烷二萜。大戟属松香烷二萜有强的生理活性，如抗癌等。因此，这类化合物一直引起学者的关注。从狼毒（*E. fischeriana*）中分离的 jolkinolide A（**75**）、jolkinolide B（**48**）、17-hydroxy-jolkinolide A（**76**）和 17-hydroxy-jolkinolide B（**49**），即为此类二萜。化合物 **49** 对 P_{388}白血病细胞和 SGC7901 肿瘤细胞有很强的抑制作用[57]。存在大戟属植物中的松香烷二萜可见表 8-7。



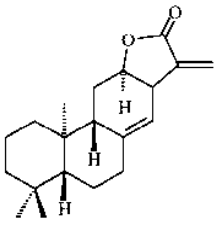
75 R_1=H, R_2=β-Me
76 R_1=OH, R_2=β-Me
77 R_1=H, R_2=α-Me
47 R_1=OH, R_2=α-Me



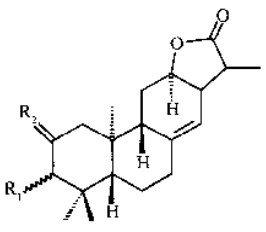
48 R_1=H, R_2=β-Me
49 R_1=OH, R_2=β-Me
50 R_1=H, R_2=α-Me
51 R_1=OH, R_2=α-Me



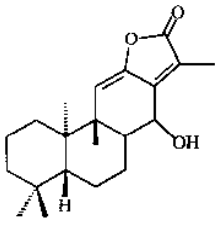
52



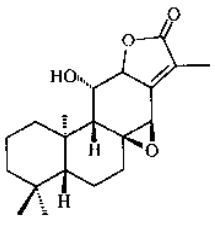
53



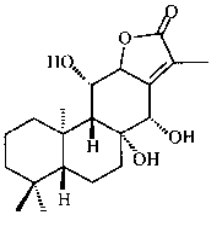
54 R_1=H, R_2=H$_2$
55 R_1=α-OH, R_2=H$_2$
56 R_1=β-OH, R_2=H$_2$
57 R_1=α-OH, R_2=O



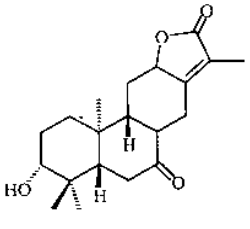
58



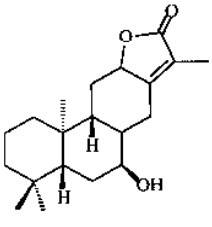
59



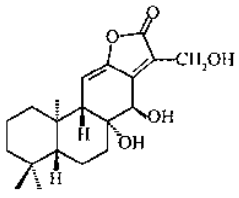
60



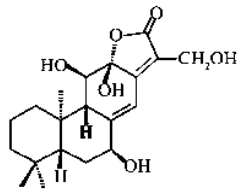
61



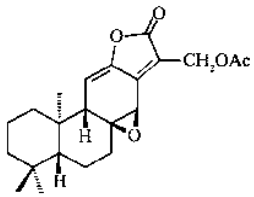
62



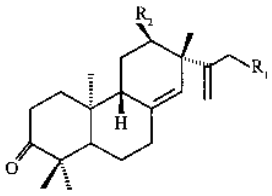
63



64

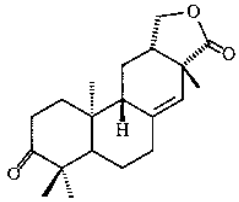


65

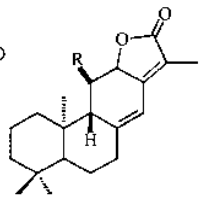


66 R_1=OH, R_2=H

67 R_1=R_2=OH

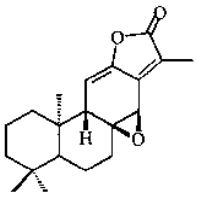


68

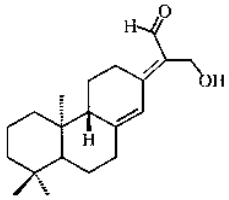


69 R=H

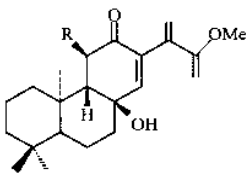
70 R=OH



71



72



73 R=H

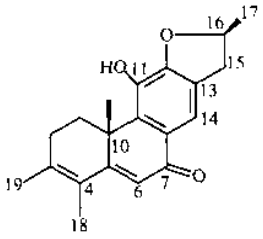
74 R=H

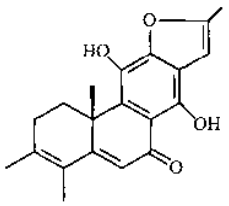
表 8-7　大戟属植物所含的二萜化合物

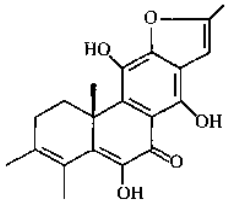
种属	化合物	活性	文献
E. fischeriana (狼毒大戟)	**75,76,48*,49** **77,50,51,64,65**	抗白血病,止痛,镇痛	[57～63]
E. candicifolia	**77,47**		[64]
E. huachangana	**77,50**		[65]
E. jolkinii	**77,50,52,53,54**		[66,67]
E. helioscopia(泽漆)	**55,56,57**		[68,69]
E. triaculeara	**48**	抗白血病	[70]
E. acanlis	**47,63**	抗炎	[71,72]
E. sieboldiana(钩腺大戟)	**55**		[73]
E. ebracteolata(月腺大戟)	**48,59,60**		[74]
E. pallasii	**75,76,48**	杀菌	[75,76]
E. semiperfoliata	**61**		[77]
E. terracina	**62**		[78]
E. fidjiana	**66,67,68,69,70,71,72**		[79]
E. portulacoides	**73,74**		[80]

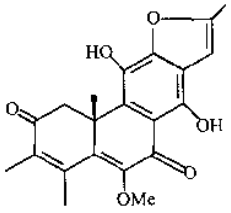
* 神经生长因子促进剂。

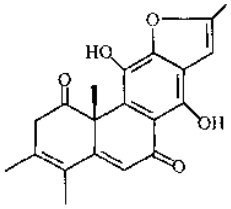
从马鞭草科植物海通(*Clerodendrum mandarinorum*)中也发现多种 A 环和 C 环重排的松香烷二萜,如 mandarones D～H(**78～82**)。从大青(*C. cyrtophyllum*)分离的 cyrtophyllone(**83**)属于 C 环重排的二萜[84]。

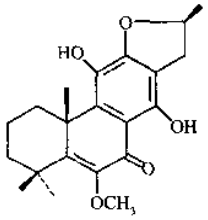

78


79


80


81


82


83

三、丹参二萜

唇形科鼠尾属(*Salvia* L.)植物丹参(*Salvia miltiorrhiza* Bunge)为著名中药,有活血化瘀的功效、主治冠心病等疾病。由于丹参的生理活性,近20年来对丹参的研究无论是分离,结构研究和生物实验方面都取得明显的进展。丹参二萜属于松香烷二萜,现已从鼠尾属植物中分离得的二萜化合物40余种。

1. 丹参二萜的结构

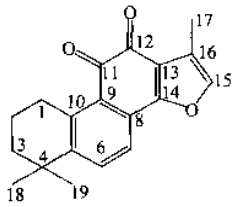
丹参二萜为松香烷二萜,可分为三种类型:

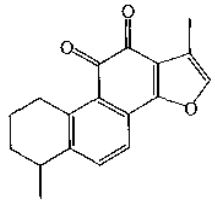
1)丹参酮(tanshinone)型。例如,存在丹参植物中,含量最高的丹参酮ⅡA(tanshinone ⅡA,**84**)、丹参酮Ⅰ(tanshinoneⅠ,**85**)、隐丹参酮(cryptotanshinone,**86**)等属于这类型结构,这类化合物存在有邻醌的结构。

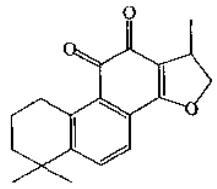
2)罗列酮(royleanone)型。异丹参酮Ⅰ(isotanshinoneⅠ,**87**)、异丹参酮ⅡA(isotanshinone ⅡA,**88**)属于这类结构,在它们的结构中存在对醌的结构。

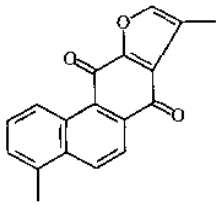
3)螺旋缩酮内酯(spiroketallactone)型。例如,丹参螺旋缩酮内酯(danshenspirokellactone,**89**)属于此类结构,该结构存在螺旋结构。

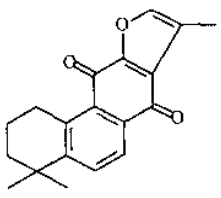
丹参二萜属于C环重排的松香烷二萜,其重排过程如图8-17所示。

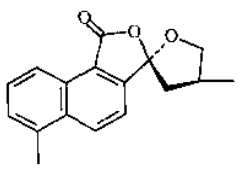

丹参酮ⅡA(84)


丹参酮Ⅰ(85)


隐丹参酮 (86)


异丹参酮Ⅰ(87)


异丹参酮ⅡA(88)


丹参螺旋缩酮内酯(89)

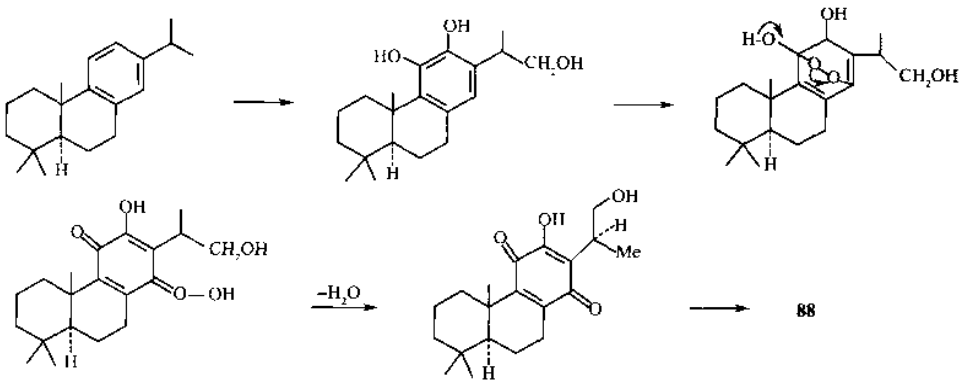


图 8-17

2. 丹参二萜的生理活性[81]

(1)抗氧化作用

丹参酮ⅡA(**84**)是一种有效的细胞内酯过氧化合物与 DNA 相互作用的抑制剂，它对 DNA 的保护作用很可能是通过消除脂类自由基，阻断脂质过氧化的链式反应，抑制 DNA 加成物的生成，从而减少加成物的细胞毒性。

(2)心血管作用

丹参酮ⅡA 的磺酸盐可缩小心肌梗死面积，利用结扎狗的冠状动脉前降支的心肌梗死模型，静脉注射化合物 **84** 的磺酸盐，结果心肌梗死范围缩小，疗效非常明显。冠状动脉内给药后同样显著缩小狗心肌梗死面积。

(3)对肿瘤细胞的诱导分化作用

诱导肿瘤细胞分化是使肿瘤细胞分化为正常细胞或接近正常细胞。丹参酮ⅡA 对人白血病细胞株(HL-60)、人肝癌细胞株(SMMC-7721)、小鼠肝癌 H_{22}瘤株及小鼠淋巴细胞白血病 P_{388}瘤株都证明有良好的诱导分化作用。

(4)神经系统作用

丹参酮ⅡA 能对抗由东莨菪碱诱发的空间识别障碍，并有轻微的抑制乙酰胆碱酯酶的作用[82]。

(5)抗菌作用

隐丹参酮、丹参酮ⅡB、羟基丹参酮ⅡA 和二氢丹参酮对金色葡萄球菌有较强的抑菌作用。丹参酮Ⅰ、丹参酮ⅡA、隐丹参酮对人型结核杆菌($H_{37}RV$)有较强的抑制作用。

3. 丹参酮Ⅰ、丹参酮ⅡA 和隐丹参酮的合成

丹参酮Ⅰ(**87**)的合成如图 8-18 所示。应用相同的方法，从 6,6-二甲基-1-乙烯基环己烯出发，可以合成丹参酮ⅡA(**84**)及隐丹参酮(cryptotanshinone，**86**)[83]，如图 8-19 所示。

另外，近期报道对丹参酮ⅡA 和丹参酮Ⅰ进行了结构修饰[85]。

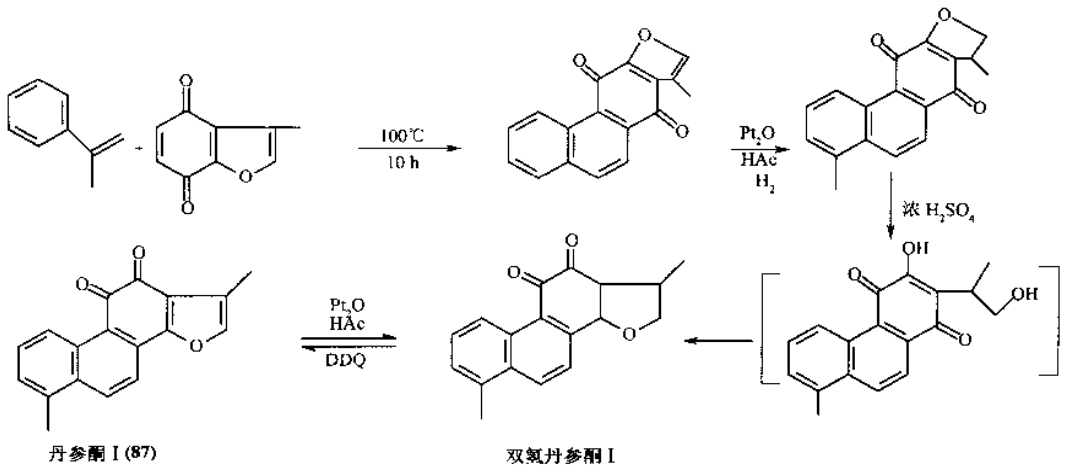


图 8-18 丹参酮 I 的合成

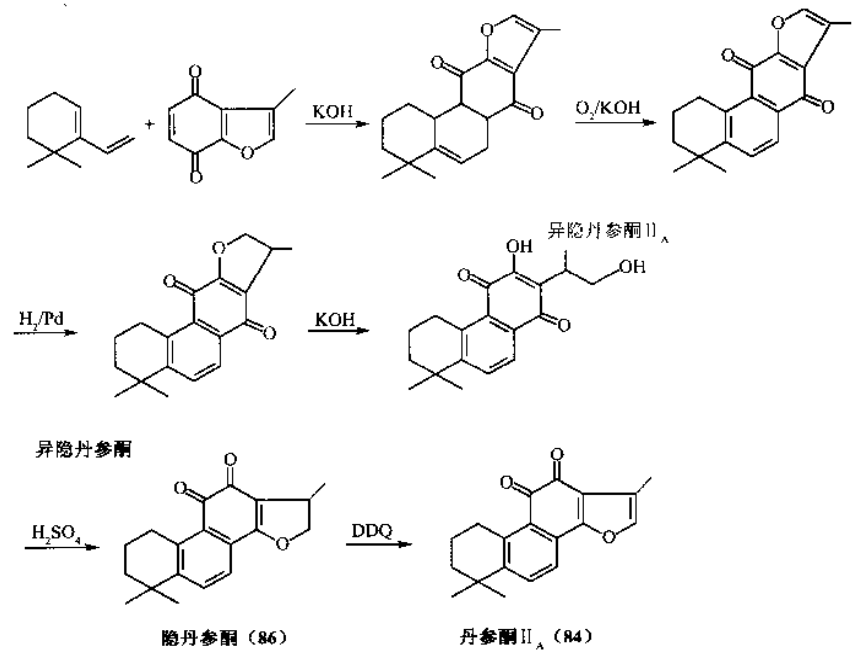
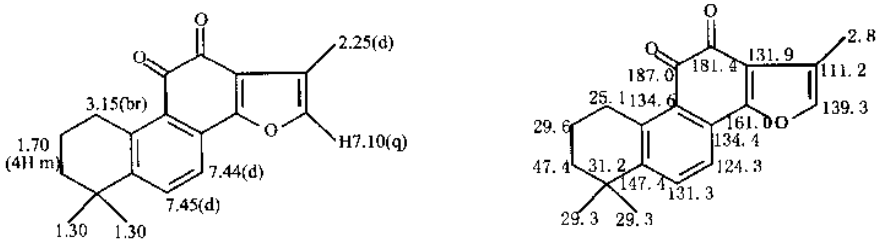


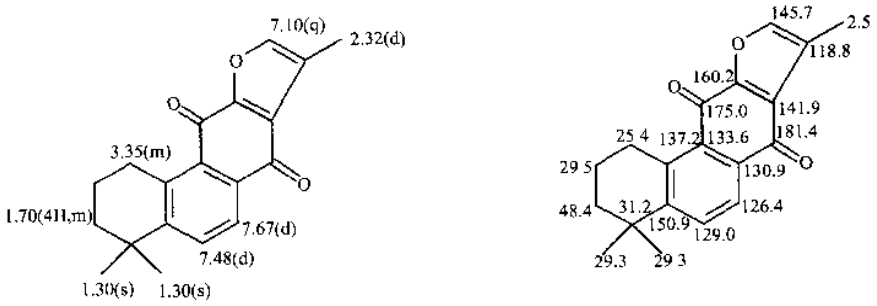
图 8-19

4. 丹参酮 II_A 及其衍生物的光谱

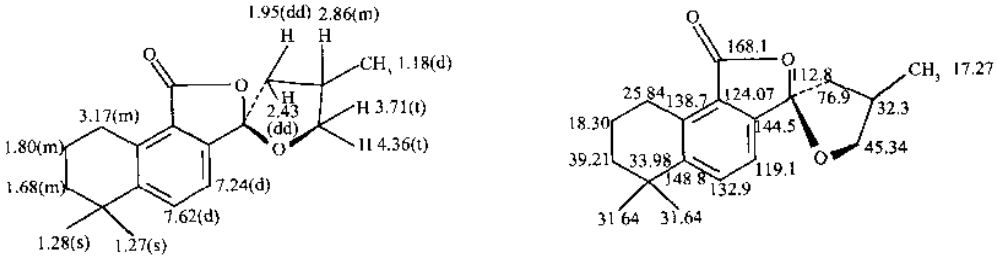
丹参酮 II_A 及其衍生物的光谱值如图 8-20 所示。



丹参酮 II_A（84，^{13}C-NMR的 δ 为计算模拟）



异丹参酮ⅡA（88，^{13}C-NMR 的 δ 为计算机模拟）



crytoacealide

图 8-20　丹参酮ⅡA 及其衍生物的光谱值

四、研究实例

[美丽红豆素 C(taxamairin C,90)的结构测定[43]]

化合物 **90**，淡黄色结晶，熔点 209～210℃（EtOH），高分辨质谱 M^+ m/z = 360.1903，（计算值 360.1903），测得分子式为 $C_{21}H_{28}O_5$。UV λ_{max}^{EtOH}：200(lgε4.19)，271(lgε3.88)，313(lgε3.51)nm。IR γ_{max} (KBr)：1677 cm^{-1}，CD(MeOH)：$\Delta\varepsilon_{235}=9.75$，$\Delta\varepsilon_{235}=6.10$，$\Delta\varepsilon_{311}=-3.40$。

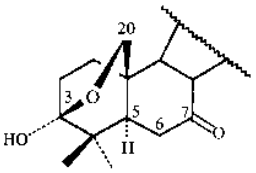
IR 谱显示 1677 cm^{-1}的羰基吸收。^{13}C-NMR 提示一个羰基碳（δ 197.67，s）和一个叔碳（116.0，d）和五个季碳（δ 121.21、129.96、130.43、133.31 和 140.65）信号，说明化合物 **90** 具有芳环和酮的结构。

^{1}H-NMR 谱的 δ 4.77(1H，dd，$J_{11\alpha,11\beta}=9$ Hz，$J_{11\alpha,5\alpha}=1.5$ Hz，20α-H)，4.18(1H，dd，$J_{11\alpha,11\beta}=9$ Hz，$J_{11\beta,1\alpha}=3$ Hz，20β-H)和 2.40(1H，br，加 D_2O 消失，3-OH)一组信号提示可能存在半缩酮的结构。其中偕氢存在有远程偶合。

由 H^1-H^1COSY 知：δ 1.48(1H，dddd，$J_{1\alpha,1\beta}=14$ Hz，$J_{1\alpha,2\beta}=12$ Hz，$J_{1\alpha,2\beta}=4$ Hz，$J_{1\alpha,11\beta}=3$ Hz，1α-H)、3.46(1H，ddd，$J_{1\beta,1\alpha}=14$ Hz，$J_{1\beta,2\beta}=12$ Hz，$J_{1\beta,2\alpha}=4$ Hz，1β-H)、1.96(1H，ddd，$J_{2\alpha,2\beta}=14$ Hz，$J_{1\alpha,2\alpha}=12$ Hz，$J_{1\beta,2\alpha}=4$ Hz，2α-H)、2.28(1H，ddd，$J_{2\beta,2\alpha}=14$ Hz，$J_{2\beta,1\beta}=12$ Hz，$J_{2\beta,1\alpha}=4$ Hz，2β-H)为相邻的两个亚甲基信号，并位 C-1 和 C-2。

由 H^1-H^1COSY 还可以找到一个 ABX 系统，这一个系统由一个次甲基和一个亚甲基组成，亚甲基 δ_C 36.3(t)，δ_H 2.67(1H，dd，$J_{6\alpha,6\beta}=15$ Hz，$J_{6\beta,5\alpha}=15$ Hz，6β-H)和 2.56(1H，dd，$J_{6\beta,6\alpha}=15$ Hz，$J_{6\alpha,5\alpha}=4$ Hz，6α-H)说明这个亚甲基与羰基相连。次甲基 δ 2.14(1H，ddd，$J_{5\alpha,6\beta}=15$ Hz，$J_{5\alpha,6\beta}=15$ Hz，$J_{5\alpha,6\alpha}=4$ Hz，$J_{5\alpha,11\alpha}=1.5$ Hz，5α-H)，从其偶合情况说明存在有远程的 W 偶合，次甲基氢一定处于 C-5 位。亚甲基的信号为 $H_{\beta\text{-}6}$，$H_{\alpha\text{-}6}$，且位于 C-7 羰基的邻位。半缩酮的氧桥应位于 C-20 和 C-3 之间。δ 1.48 和 1.15 的信号为偕二甲基位于 C-4。化合物 **90** 的部分结构如下页所示。

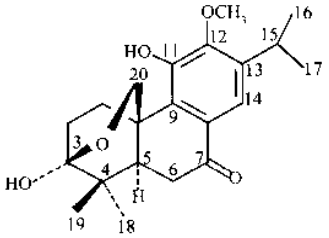
从碳谱和氢谱知，芳环上应当存在一个异丙基、一个甲氧基、一个羟基和一个芳氢，在 DFNOE 谱中，照射异丙基的次甲基质子，甲氧基和芳氢都出现 NOE 增益，说明芳氢和甲氧基分别与异丙基相邻。δ 6.20 的羟基有两种可能位置，一种可能位于 C-11，异丙基则位于 C-13，另一种可能位于 C-14，异丙基则位于 C-12。若羟基位于 C-14，必然与 C-7 上的羰基形成氢键，其 δ 应处于更低场。所以羟基位于 C-11 较为合理。由于



化合物90的部分结构

11-羟基的存在，使1β-H向低场位移（δ 3.46），进一步证明这种推断的合理性。同时，芳环上孤立芳氢和甲氧基还有两种可能位置，即12-H、14-OCH_3或14-OCH_3、12-H。若孤立芳氢位于C-12位，应处于羟基的邻位，其δ应位于高场，而不应为7.52。这样，可将孤立芳氢定位于C-14，甲氧基位于C-12。

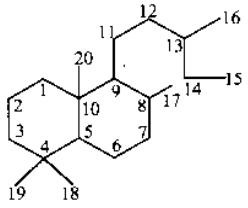
化合物**90**的CD谱在235nm处有$\Delta\varepsilon = 9.75$的正柯登效应，这是由酮羰基的$\pi \rightarrow \pi^*$跃迁引起的，说明C-7的羰基是α-取向，这样便使6β-H成为α键，6α-H为e键。由$J_{6\beta,5} = 15$ Hz和$J_{6\alpha,5} = 4$ Hz可知，5-H与6β-H的两面夹角近乎180°，5-H为α键。5α-H与20α-H的远程偶合，只有当半缩酮的氧桥处于β构型时才能发生。另外，只有当氧桥处于β构型，1β-H才有可能与11-OH处于一个平面，相距约1.5Å，使1β-H移向低场（δ 3.46），故化合物的结构应为**90**式表示，为一松香烷二萜分离自南方红豆杉。



美丽红豆杉素C（90）

第三节　半日花烷二萜

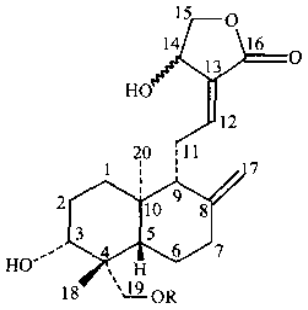
半日花烷（labdane）二萜为二环二萜，它的结构以十氢萘为母核。其结构骨架如下所示。穿心莲（*Andrographis paniculata*）所含的穿心莲内酯（andrographolide），从鞘蕊属（*Coleus*）植物毛喉鞘蕊花（*Coleus forskohlii*）中分离的鞘蕊花素（forskolin）都属于半日花二萜。穿心莲内酯具有抗菌、消炎的功效，近年又发现有细胞分化诱导活性和[88]和抗中毒性肝损伤的活性[96]。鞘蕊花素可强心、抗忧郁、解痉和治疗哮喘[97]。



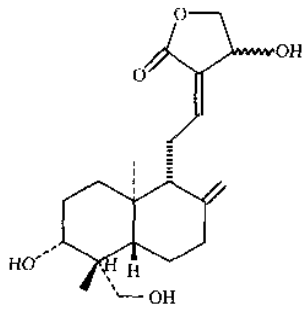
半日花烷（labdane）

一、穿心莲内酯二萜

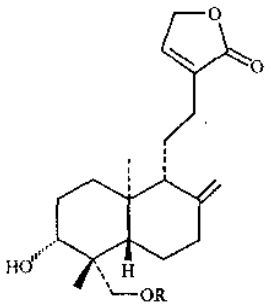
从穿心莲已发现十余种半日花型二萜。它们的结构中A/B环为反式稠合，C-10位为α-甲基，C-5为β-H，应属于ent-半日花烷（ent-labdane），C-8位的烷基脱氢后形成一个环外双键。C-9位由一个乙基连接的γ-内酯，C-9的构型为α。不仅从穿心莲分离到半日花烷的二萜，还分离到它们的苷。近年来还发现了双分子半日花烷二萜的化合物。现将文献报道的化合物归纳如图8-21所示。



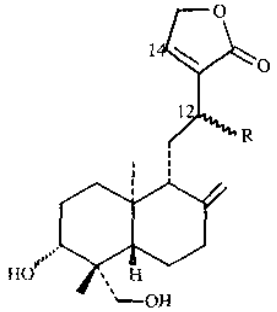
穿心莲内酯[86]
(andrographolide, **91**)
R = H, 14α-OH
穿心莲内酯葡萄糖苷[87]
(andrographoside, **92**)
R = β-D-Glu, 14α-OH
14-表穿心莲内酯[88]
(14-epi-andrographolide, **93**)
R = H, 14β-OH



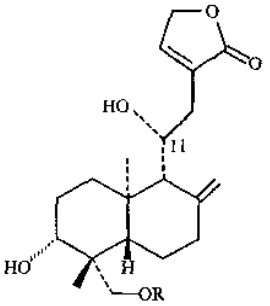
异穿心莲内酯[88,89]
(isoandrographolide, **94**)



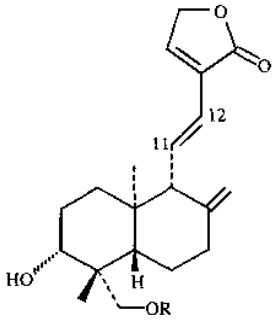
14-去氧穿心莲内酯[88,89]
(14-deoxy-andrographolide, **95**)
R = H
14-去氧穿心莲内酯葡萄糖苷[89]
(14-deoxy-andrographoside, **96**)
R = D-β-Glu



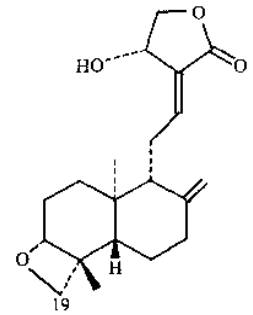
14-去氧-12-甲氧基穿心莲内酯
(14-deoxy-12-methoxyandrographolide, **97**)
R = α 或 β-OMe
12-表-14-去氧-12-甲氧基穿心莲内酯[88]
(12-epi-14-deoxy-12-methoxyandrographolide, **98**)
R = β 或 α-OMe
14-去氧-12(*R*)-羟基穿心莲内酯[88]
(14-deoxy-12(*R*)-hydroxy-andrographolide, **99**)
R = α-OH
14-去氧-12(*S*)-羟基穿心莲内酯[89]
(14-deoxy-12(*S*) hydroxyandrographolide, **107**)
R = β-OH



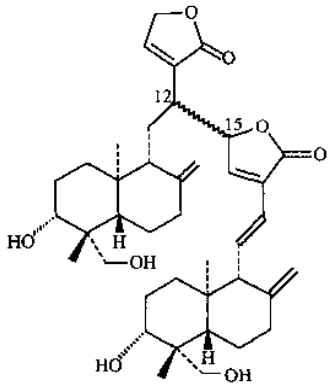
14-去氧-11(*R*)-羟基-穿心莲内酯[88]
(14-deoxy-11(*R*)-hydroxyandrogrolide, **100**)



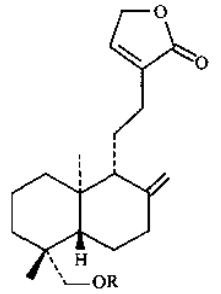
14-去氧-11,12-二去氢穿心莲内酯[88,89]
(14-deoxy-11,12-didehydroandrographolide,**101**)
R=H
14-去氧-11,12-二去氢穿心莲内酯苷[88,89]
(14-deoxy-11,12-didehydroandrographolide,**102**)
R=Glu



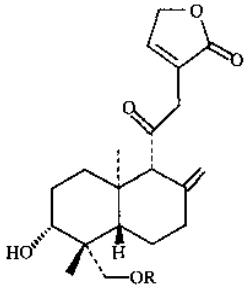
环氧穿心莲内酯[90]
(3α,19-oxide-andrographolide,**105**)



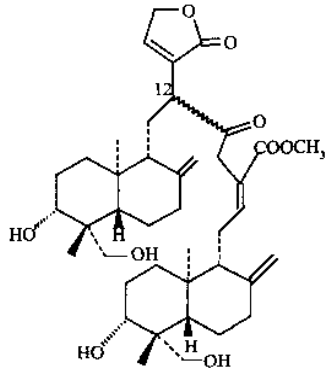
双穿心莲内酯 A[88]
(bisandrographolide A,**108**)
C_{12-H},C_{15-H}=α-H 或 β-H,$[\alpha]_D$+1.6°
双穿心莲内酯 B[88]
(bisandrographolide B,**109**)
C_{12-H},C_{15-H}=α-H 或 β-H,$[\alpha]_D$-8.9°
双穿心莲内酯 C[88]
(bisandrographolide C,**111**)
C_{12-H},C_{15-H}=α-H 或 β-H,$[\alpha]_D$-74.5°



新穿心莲内酯[88]
(neoandrographolide,**103**)
R=Glu
6′-乙酰新穿心莲内酯[88]
(6′-acetylneoandrographolide,**104**)
R=Glu-6′-Ac



14-去氧-11-氧穿心莲内酯[91]
(14-deoxy-11-oxy-andrographolide,**106**)



双穿心莲内酯 D[88]
(bisandrographolide D,**112**),$[\alpha]_D$-40.1°
C_{12-H}=α-H 或 β-H

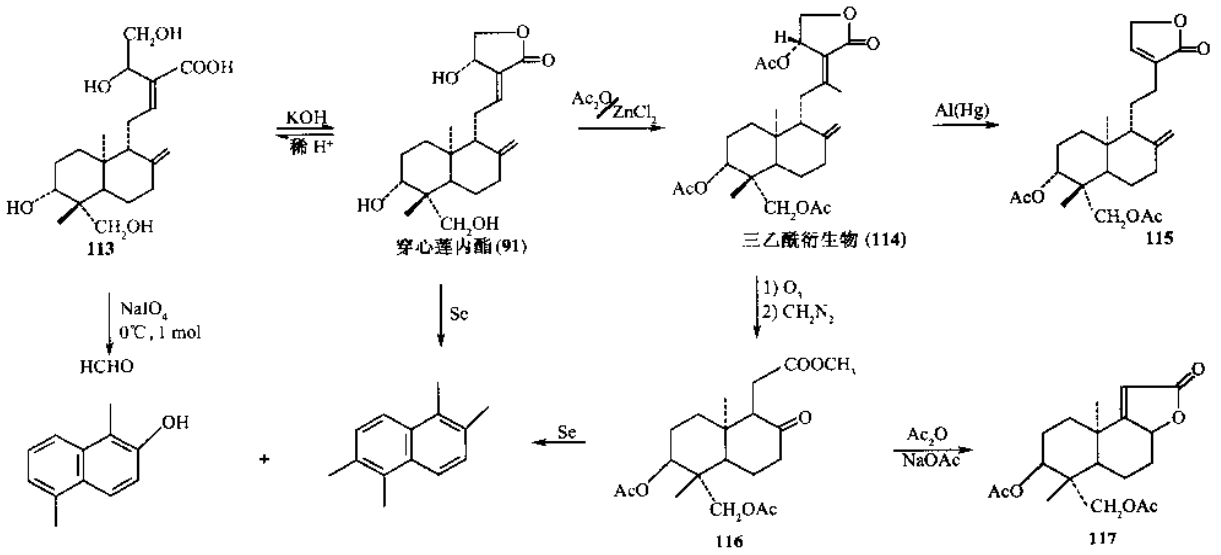
图 8-21

1. 穿心莲内酯二萜的结构研究[56,92~94]

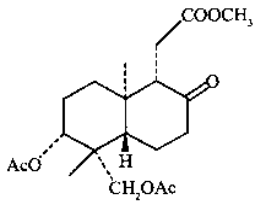
1962年，Cava等完成了它的结构研究工作。穿心莲内酯的分子式：$C_{20}H_{30}O_5$，熔点 230～231℃，$[\alpha]_D$ +127°。

紫外光谱：λ_{max} 223nm（δ 12 300），证明分子中有不饱和 γ-内酯的结构。红外光谱显示分子中除了 γ-内酯环以外，尚有环外次甲基的存在。

穿心莲内酯（**91**）在碱性下，生成化合物 **113**，化合物 **113** 的开环，说明了化合物 **91** 存在有内酯的结构。化合物 **91** 与硒共热，得两个萘的衍生物，证明化合物 **91** 系由十氢萘组成 A、B 两环，并提示 C-3、C-4、C-8、C-9有取代。化合物 **91** 在醋酐作用下，得三乙酰化合物 **114**，证明存在三个羟基，化合物 **114** 在 Al(Hg)的作用下，发生氢解得化合物 **115**，证明羟基位于双键的丙烯位（allylic position）。化合物 **114** 用臭氧氧化，然后与重氮甲烷进行甲基化得化合物 **116**，在酸性条件下得具有 γ-不饱和内酯的化合物 **117**，证明化合物 C-8 和C-9 有取代。



化合物 **116** 的 CD 谱在 289nm 呈现正的 Cotton 效应，由八区律可以证明 C-9 位侧链和 C-10 甲基均为 α 构型。



化合物 **116** 在乙酸作用下得化合物 **117**，化合物 **117** 再与甲酰氯作用得化合物 **118**，化合物 **118** 与三甲基胺作用下得烯丙内酯（**119**）。化合物 **119** 又回覆到化合物 **117**，说明—CH_2—COOH 处于 e 键，此为又证明 C-9 位处于 α 构型。

通过以下反应 C-3 羟基和 C-19 伯醇与丙酮生成丙酮乙叉化合物，证明 C-3 羟基与 C-19 位伯醇成顺式并进步证明 C-3 羟基为横键（α 构型），C-19 的伯醇为直立键（α 构型），如图 8-22 所示。

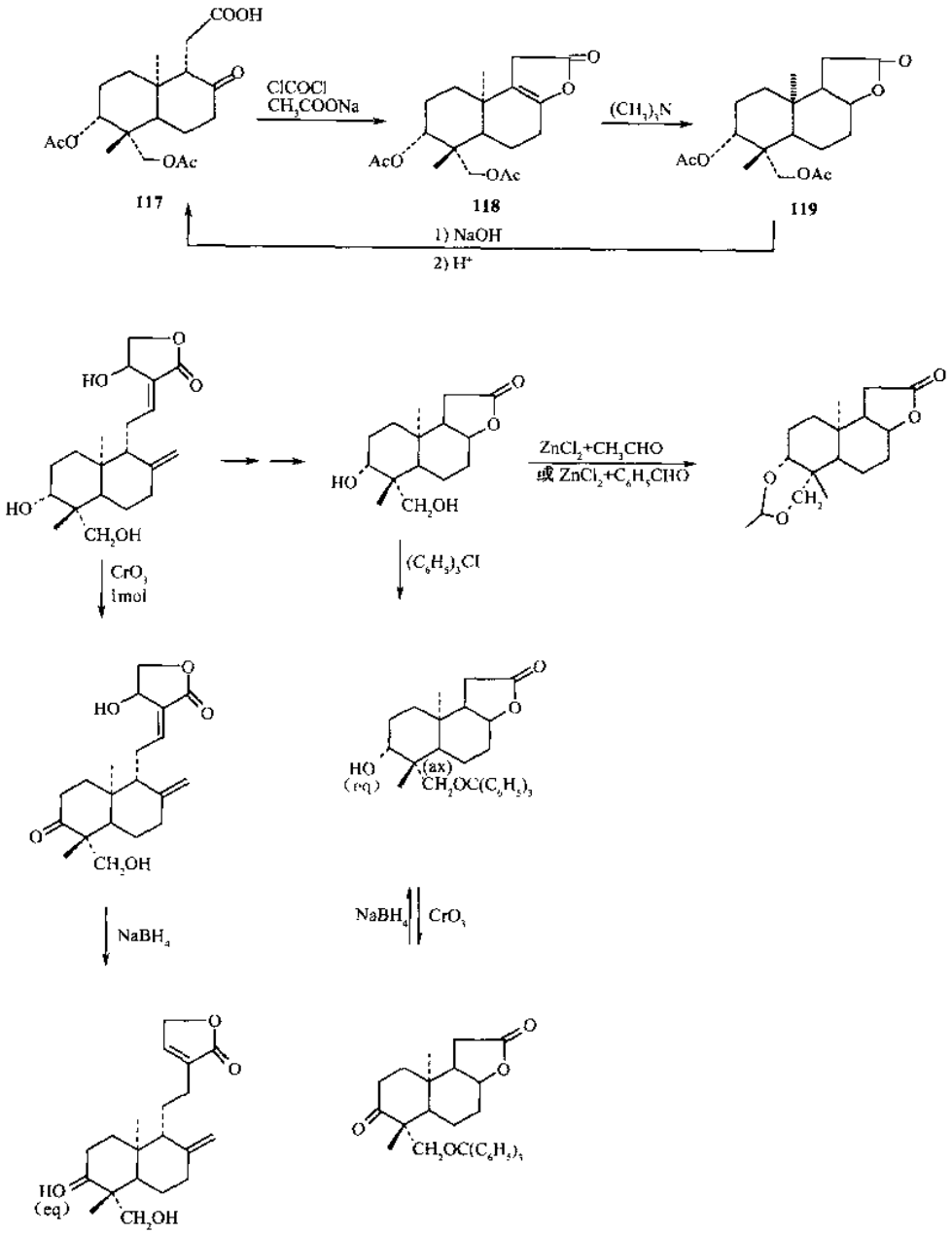


图 8-22

2．穿心莲内酯及其衍生物的核磁共振光谱

现将穿心莲内酯及其衍生物的核磁共振光谱总结于表 8-8 和表 8-9 中[88]。

表 8-8 穿心莲内酯及其衍生物的^{1}H-NMR 数据(Py-d_5)

H	91	92	93	94	95	96	97
3	3.6[1)]	3.52 (dd, J=4.0,11.6)	3.6[1)]	3.6[1)]	3.6[1)]	3.49 (dd, J=4.0,11.3)	3.6[1)]
9	1.9[1)]					1.6[1)]	2.24(d, J=11.0) 1.8[1)]

续表

H	91	92	93	94	95	96	97
11	2.71 (br, t, J = 6.4)	2.73(t,J=7.0)	2.71(m)	2.98(ddd,J = 7.0, 11,16)	1.7[1)]	1.6[1)]	1.8[1)]
12	7.16(td,J = 6.1, 1.9)	7.17 (td,J=6.7,1.6)	7.17(td,J = 6.5, 1.6)	6.70(brt,J=7)	2.52(brt,J=15)	2.52(brt,J=13)	4.28 (brd, J = 10.5)
14	5.40(brs)	5.32(brs)	5.39(brs)	5.04(brs)	2.19(m) 7.19(t,J=1.5)	2.19(m) 7.16(brt,J=1.5)	7.48(brs)
15	4.50(dd,J=10.0, 2.5) 4.60(dd,J=10.0, 6.0)	4.46(dd,J=10.0, 2.6) 4.58(dd,J=10.0, 5.9)	4.50(dd,J=10.5, 2.0) 4.59(dd,J=10.5, 6.0)	4.38 (dd, J = 10, 3.0) 4.51 (dd, J = 10, 6.5)	4.73(d,J=1.5)	4.73(brs)	4.88(brs)
17	4.84(brs) 4.86(brs)	4.81(brs) 4.85(brs)	4.84(brs) 4.86(brs)	4.70(brs) 4.87(brs)	4.74(brs) 4.94(brs)	4.73(brs) 4.92(brs)	5.02(s) 5.21(s)
18	1.49(s)	1.45(s)	1.49(s)	1.48(s)	1.49(s)	1.44(s)	1.47(s)
19	3.6[1)] 4.43(d,J=10.5)	3.85(d,J=10.5) 4.61(d,J=10.5)	3.61(d,J=10.5) 4.43(d,J=10.5)	3.6[1)] 4.43(d,J=11.0)	3.6[1)] 4.44(d,J=11.0)	3.84(d,J=10.3) 4.61(d,J=10.3)	3.61(d,J=10.5) 4.44(d,J=11.0)
20	0.65(s)	0.84(s)	0.66(s)	0.71(s)	0.73(s)	0.83(s)	0.68(s)
—OMe							3.27(s)
—OAc							
Glc-1′		4.79(d,J=7.8)				4.79(d,J=7.8)	
2′		3.95(t,J=7.8)				3.95(t,J=7.8)	
3′		4.1[1)]				4.1[1)]	
4′		4.1[1)]				4.1[1)]	
5′		3.88(m)				3.88(m)	
6′		4.29 (dd,J=5.4,11.6) 4.46[1)] (dd,J=2.4,11.6)				4.29 9dd,J=5.1,11.6) 4.45 (dd,J=2.5,11.6)	

H	98	99	100	101	102	103	104
3	3.54(dd,J=5.5, 11.3)	3.5[1)]	3.619dd, J = 4.0, 11.0)	3.6[1)]	3.54 (dd, J = 4.5, 12.0)	0.9[1)] 2.13(brt,J=13)	
9			1.77(brs)			1.6[1)]	
11			1.77(brs) 4.80(dd,J=9.5)	7.15(dd,J=10.3, 15.8)	7.17 (dd,J=10.3,15.5)	1.6[1)]	
12	4.33(dd,J=4.5, 8.5)	5.03(brt,J=6)	2.77(dd,J=5,14) 3.15(dd,J=9,14)	6.26(d,J=15.5)	6.25(d,J=15.5)	2.2[1)] 2.50(tm,J=13)	
14	7.56(brs)	7.56(brs)	7.33(brs)	7.32(brt)	7.30(brs)	7.15(brt)	7.16(s)
15	4.86(brs)	4.79(d,J=1.5)	4.69(d,J=17.5) 4.60(d,J=17.5)	4.79(brs)	4.78(brs)	4.72(d,J=1.5)	4.73(s)
17	4.81(s) 4.91(s)	4.91(brs) 4.96(brs)	5.11(s) 5.77(s)	4.74(brd) 4.86(brd)	4.73(brd) 4.83(brd)	4.70(s) 4.89(s)	
18	1.47(s)	1.43(s)	1.48(s)	1.51(s)	1.47(s)	1.17(s)	1.14(s)
19	3.59(d,J=10.5) 4.43(d,J=10.5)	3.6[1)] 4.53(d,J=11.0)	3.68(d,J=11.0) 4.47(d,J=11.0)	3.64(d,J=11.0) 4.47(d,J=11.0)	3.91(d,J=10.5) 4.66(d,J=10.5)	3.48(d,J=9.5) 4.32(d,J=9.5)	3.44(d,J=11.0) 4.32(d,J=11.0)
20	0.68(s)	0.73(s)	1.37(s)	0.87(s)	1.05(s)	0.63(s)	0.736(s)
—OMe	3.26(s)						
—OAc							1.98(s)
—Glc-1					4.839(d,J=7.5)	4.82(d,J=7.5)	4.75(d,J=7.5)

续表

H	98	99	100	101	102	103	104
2					4.01(d, J=7.5)	4.03(d, J=7.5)	4.18(t, J=8.5)
3					4.2[1)]	4.2[1)]	4.0[1)]
4					4.2[1)]	4.2[1)]	4.0[1)]
5					3.90(m)	3.95(m)	3.65(m)
6					4.35(dd, J = 5.5, 11.5) 4.51(dd, J = 3.0, 11.5)	4.38(dd, J = 5.5, 12.0) 4.54(dd, J = 3.0, 12.0)	

1)信号发生重叠。

表 8-9 穿心莲内酯及其衍生物的^{13}C-NMR 数据(Py-d_5)

C	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104
1	37.3	37.9	37.3	37.2	37.3	37.8	37.2	37.2	37.3	39.7	38.7	39.3	39.0	39.0
2	29.0	29.2	29.0	28.9	29.0	29.2	29.0	29.0	29.0	29.0	28.8	29.1	19.3	19.2
3	79.8	79.1	80.0	79.8	80.0	79.1	79.9	79.9	79.9	80.0	80.1	79.2	36.4	36.1
4	43.2	43.3	43.3	43.2	43.3	43.3	43.2	43.2	43.2	43.3	43.3	43.3	39.8	39.8
5	55.3	55.7	55.2	55.3	55.6	55.8	55.4	55.3	55.5	56.4	54.7	55.0	56.1	56.1
6	24.3	25.0	24.4	24.4	24.7	25.3	24.5	24.6	24.6	24.9	23.6	24.6	24.6	24.6
7	38.1	38.4	38.3	38.2	38.6	38.8	38.7	38.5	38.6	40.1[1)]	37.0	37.2	38.7	38.7
8	147.9	148.2	148.2	148.3	148.0	148.2	148.0	149.1	149.3	147.6	149.2	149.6	148.1	148.1
9	56.3	56. 3	57.0	56.7	56.5	56.6	52.0	52.1	52.4	60.3	61.7	61.9	56.6	56.6
10	39.1	39.5	39.4	39.3	39.5	39.7	39.0	39.5	39.6	37.2	39.0	39.3	38.5	38.5
11	25.0	25.1	24.4	23.8	22.4	22.4	30.7	29.4	31.9	67.5	135.6	135.9	22.1	22.1
12	147.0	146.9	146.8	148.1	25.0	25.0	75.4	75.7	65.9	34.1	121.9	121.8	25.0	25.0
13	130.2	130.1	132.7	129.8	134.2	134.2	135.4	134.1	138.2	132.0	128.8	128.8	134.1	134.1
14	66.0	66.0	66.2	69.0	145.2	145.2	146.8	148.8	146.8	146.0	145.1	145.0	145.3	145.3
15	75.4	75.2	71.3	74.3	70.5	70.5	71.1	70.8	70.7	70.6	70.3	70.3	70.5	70.5
16	170.7	170.6	168.1	469.9	174.4	174.4	173.5	173.2	173.6	174.9	172.8	172.8	174.6	174.6
17	108.8	108.5	108.4	108.1	107.1	107.0	108.3	107.2	107.1	110.6	108.7	108.5	106.9	107.0
18	23.7	24.4	23.6	23.7	23.6	24.4	23.6	23.5	23.6	23.7	23.6	24.4	28.1	27.9
19	64.1	72.0	64.1	64.1	64.2	72.0	64.2	64.1	64.2	64.2	64.2	72.3	72.5	72.0
20	15.2	14.8	15.3	15.2	15.3	15.0	15.5	15.3	15.4	17.4	16.0	15.5	16.6	15.5
glc-1′		105.4				105.4						105.5	105.5	104.8
2′		74.9				74.8						74.9	75.3	75.0
3′		78.7				78.7						78.7	78.7	78.4
4′		71.8				71.8						71.6	71.7	71.6
5′		78.4				78.4						78.6	78.4	75.1
6′		62.8				62.8						62.6	62.8	64.8
—OMe							75.9	56.7						
C=O													170.7	
CH_3													20.7	

双穿心莲内酯的核磁共振数据归纳如表 8-10 和表 8-11 所示[88]。

表 8-10　双穿心莲内酯的^{1}H-NMR 数据

项目	108	109	111	112
H-3	3.40dd,J=10.0,3.5)	3.6[1)]	3.6[1)]	3.3[1)]
9	1.6[1)]		2.0[1)]	1.57(d,J=12.0)
11	1.47(brd,J=13.5)	2.22(brt,J=15.4)	1.74(m)	1.64(td,J=2.13)
	1.8[1)]		2.32(m)	2.12(d,J=12.5)
12	2.93(m)	3.40(dm,J=9.0)	3.38(brd,J=10.0)	3.90(brt,J=11.0)
14	7.35(s)	7.67(d,J=1.5)	7.63(brs)	7.25(brs)
15	4.83(s)	4.77(dd,J=18.2) 4.87(d,J=18.0)	(d,J=19.0) 4.82(d,J=18.0)	
17	4.39(s),4.82(s)	4.67(s),4.92(s)	4.90(s),4.60(s)	4.76(s),4.96(s)
18	1,18(s)	1.40(s)	1.47(s)	1.21(s)
19	3.24(d,J=11.0) 4.10(d,J=11.0)	3.6[1)] 4.45(d,J=11.0)	3.6[1)] 4.43(d,J=10.8)	3.3[1)] 4.16(d,J=11.0)
20	0.57(s)	0.67(s)	0.68(s)	0.61(s)
3′	3.35[1)]	3.52(dd,J=10.0,5.5)	3.6[1)]	3.3[1)]
9′	2.32(d,J=10.0)	2.4[1)]	2.3[1)]	1.8[1)]
11′	6.82(dd,J=10.0,16.0)	7.19(dd,J=10.5,16.0)	7.13(dd,J=9.7,15.7)	2.1[1)],2.23(dd,J=17.0,1.5)
12′	6.08(d,J=16.0)	6.27(d,J=16.0)	6.265(d,J=15.7)	6.68(brt)
14′	7.06(s)	7.66(brs)	7.52(brs)	3.36(d,J=17.5) 3.63(d,J=17.5)
15′	5.14(m)	5.61(brd,J=5.0)	5.56(brs)	
17′	4.48(s),4.77(s)	4.77(s),4.81(s)	4.79(s)	4.36(s),4.83(s)
18′	1.24(s)	1.50(s)	1.49(s)	1.24(s)
19′	4.18(d,J=12.0) 3.32(d,J=12.0)	3.6[1)] 4.45(d,J=10.0)	3.6[1)] 4.45(d,J=10.8)	3.6[1)] 4.16(d,J=10.0)
20′	0.81(s)	0.87(s)	0.85(s)	0.64(s)
-OMe	3.67(s)			

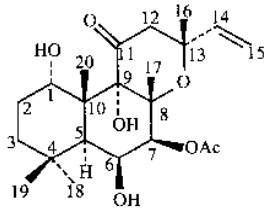
1)信号出现重叠;化合物 **108** 和 **113** 在 $CDCl_3$ 中测定,化合物 **109** 和 **111** 在 Py-d_5 中测定(下同)。

表 8-11　双穿心莲内酯及其衍生物的^{13}C-NMR 数据

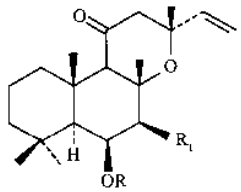
项目	108	109	111	112	项目	108	109	111	112
C-1	36.7	37.1	37.2	36.5	C-1′	38.3	38.7	38.6	37.0
2	28.1	29.0	29.0	28.3	2′	28.1	28.8	28.8	28.2
3	80.3	79.7	79.8	80.4	3′	80.6	80.0	80.0	80.4
4	42.8	43.3	43.3	42.8	4′	42.6	43.2	43.3	42.8
5	55.6	55.1	55.5	55.4	5′	54.6	54.7	54.7	55.2
6	24.0	24.5	24.6	23.8	6′	23.0	23.7	23.7	24.0
7	38.1	38.5	38.4	38.1	7′	36.6	36.9	36.9	37.9
8	147.0	147.7	147.9	147.1	8′	148.0	150.0	150.0	146.3
9	55.1	53.8	53.9	53.9	9′	61.7	61.7	61.7	55.9
10	39.5	39.4	29.6	39.2	10′	38.6	39.0	38.9	38.9
11	23.0	25.1	25.8	26.4	11′	136.9	136.6	136.3	24.6
12	38.4	38.8	37.6	45.9	12′	120.8	121.7	121.7	147.5
13	134.2	131.5	132.4	132.8	13′	130.1	130.2	130.0	124.6
14	148.3	149.1	149.1	146.5	14′	145.0	146.7	147.3	43.1
15	80.6	71.1	71.6	70.8	15′	81.1	82.5	80.4	206.3
16	173.5	174.2	174.3	173.4	16′	171.7	172.0	172.2	167.2
17	108.1	107.5	107.8	108.4	17′	109.1	108.7	108.8	108.8
18	22.9	23.6	23.6	22.9	18′	22.8	23.6	23.6	22.9
19	64.1	64.1	64.2	64.2	19′	64.2	64.2	64.2	64.2
20	14.9	15.2	15.3	15.4	20′	22.8	16.0	16.0	15.1
									52.0

二、鞘蕊花素二萜[97]

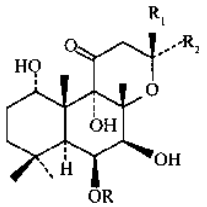
鞘蕊花素二萜的结构也属于半日花烷，在它的结构中，A/B 为反式稠合，C-10 甲基为 β 构型，C-5 氢为 α 构型，其构型与穿心莲内酯二萜恰好相反，应属于半日花烷(labdane)。另外，在 C-8 和 C-13 之间构成一个六元氧环，C-11 存在一个羰基，C-13 有一个烯链。从唇形科(Labiatae)毛喉鞘蕊花(*Coleus forskohlii*)分离的二萜中，以鞘蕊花素(forskolin，**113**)为主。此外尚分离得一系列类似物，如 1,9-二去氧鞘蕊花素(1,9-dideoxy-forskolin，**114**)、1,9-二去氧-7-去乙酰鞘蕊花素(1,9-dideoxy-7-deacetylforskolin，**115**)、1,9-二去氧-7-去乙酰氧鞘蕊花素(1,9-dideoxy-7-deacetoxyforskolin，**116**)、7-去乙酰鞘蕊花素(7-deacetylforskolin，**117**)、6-乙酰-7-去乙酰鞘蕊花素(6-acetyl-7-deacetylforskolin，**118**)及其 C-13 位异构体化合物 **119** 等。



113



114 R=H,R_1=OAc
115 R=H,R_1=OH
116 R=R_1=H



117 R=H,R_1=Me
R_2= CH=CH_2
118 R=Ac,R_1=Me
R_2=—CH=CH_2
119 R=Ac,R_1=—CH=CH_2
R_2=Me

1. 鞘蕊花素(113)的结构

鞘蕊花素在 C-8 和 C-13 间形成一个六元氧环，可能由图 8-23 所示反应而成的。

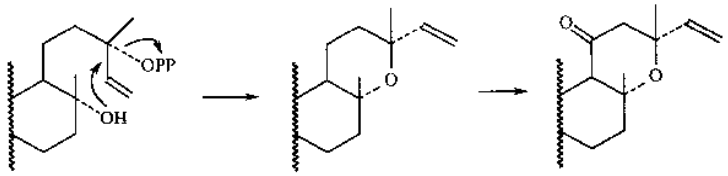


图 8-23

鞘蕊花素的 A/B 为反式稠合，C-10 甲基为 β 构型，C-5 氢为 α 构型，属于半日花烷(labdane)型，其 C-11 位存在一个羰基，根据 CD 谱的八区律，在 312nm 处出现负的 Cotton 效应。

鞘蕊花素的 C-6，C-7 苯甲酰衍生物的激子手性 CD 谱为 $\Delta\varepsilon_{239}$ + 15.18，$\Delta\varepsilon_{227}$0，$\Delta\varepsilon_{221}$ − 2.43，苯甲酰色团长轴(long axis)呈 $\pi\rightarrow\pi^*$ 转移。证明 C_6-OH 和 C_7-OAc 均为 β 构型[98]，见图 8-24。

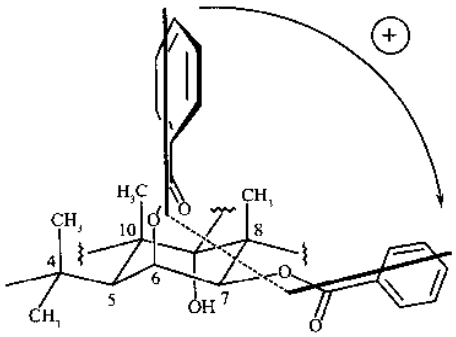


图 8-24 鞘蕊花素苯甲酰衍生物激子手性示意图

化合物 **113** 的绝对构型应用了 X 射线予以证明，由 X 射线知，在固体状态它的 C 环呈椅式构象[97]，但是用高分辨核磁证实在溶液中环呈船式构象[99]（图 8-25）。

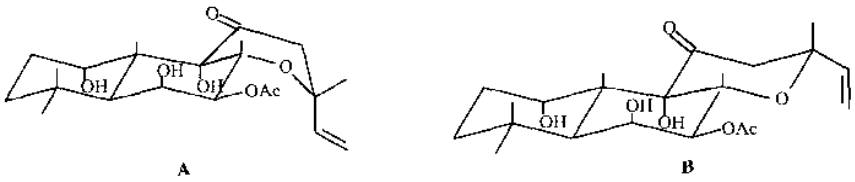


图 8-25　船式构象（A）与椅式构象（B）

鞘蕊花素（**113**）的结构还可以经过如图 8-26 所示化学反应加以证明[174]。

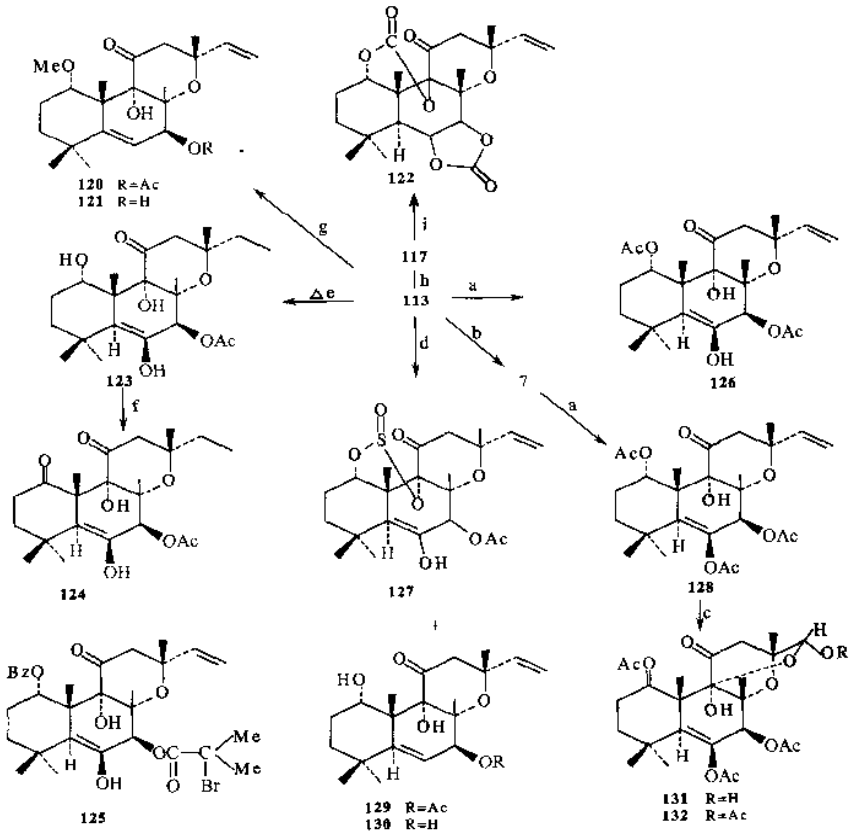


图 8-26　利用化学转换证明化合物（**113**）的结构

a. Ac_2O，吡啶；b. Al_2O_3，苯；c. O_3，$CHCl_3$；d. $SOCl_2$，吡啶；e. H_2，Pd/C；f. Jones reagent；g.（i）. Me_2SO_4，K_2CO_3，g（ii）. $SOCl_2$，吡啶；h. KOH，MeOH，H_2O；i. $COCl_2$，吡啶

2．鞘蕊花素的光谱

鞘蕊花素的氢谱图如图 8-27 所示。氢谱和碳谱数据如表 8-12 所示。

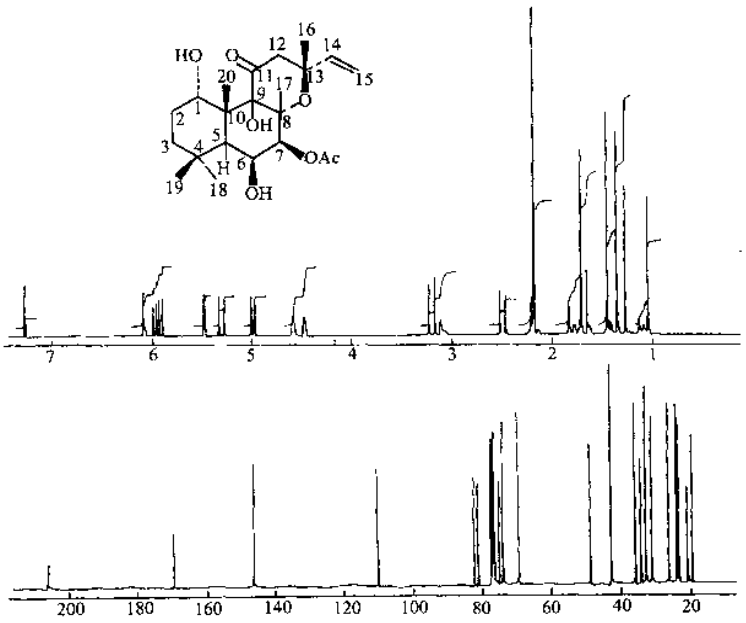


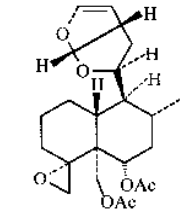
图 8-27 鞘蕊花素的氢谱和碳谱图

表 8-12 鞘蕊花素^{1}H-NMR 和^{13}C-NMR 数据($CDCl_3$)

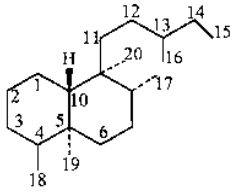
原子	δ H		δ C	
1	4.56	dd, $J_{1,2}$=3.4，2.5	74.5	d
2-β	1.44	m	26.6	t
2-α	2.13	m		
3-α	1.11	m		
3-β	1.77	m	36.1	t
4			34.4	s
5	2.19	d, $J_{5,6}$=1.9	42.9	d
6	4.46	dd, $J_{5,6}$=1.9, $J_{6,7}$=3.9	69.9	d
7	5.48	d, $J_{6,7}$=3.9	76.7	d
8			81.4	s
9			82.7	s
10			42.95	s
11			205.3	s
12-α	2.47	d, J_{gem}=17.1	48.8	t
12-β	3.20			
13			75.0	s
14	5.94	dd, $J_{14,15}$=17.1,10.2	146.4	d
15	4.98	dd, $J_{14,15_{gem}}$=10.2,1.0	110.7	t
	5.30	dd, $J_{14,15_{gem}}$=17.1,1.0		
16	1.34	s	31.5	q
17	1.71	s	23.6	q
18	1.03	s	33.0	q
19	1.26	s	24.3	q
20	1.44	s	19.8	q
21			169.6	s
22	2.17	s	21.0	q

第四节　克罗烷二萜

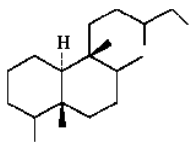
克罗烷二萜的名称起源于化合物 clerodin (**100**)[100]，它的骨架用 **101** 式和 **102** 式表示。从其结构可知，克罗烷结构的骨架为十氢萘，它的结构中 C-4 和 C-5 各存在一个烷基，C-5 存在一个甲基，C-10 无取代，C-9 有两个烷基取代为一季碳。构型与 clerodin (**100**)相同的母核命名为 neo-克罗烷(neo-clerodane，**101**)，构型与化合物 **100** 相反的为 ent-neo-克罗烷(ent-neo-clerdane，**102**)。



100



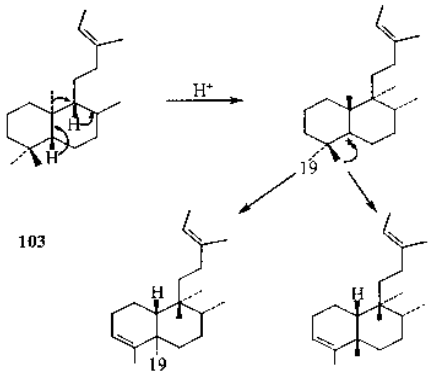
neo- 克罗烷 (neo-clerodane,**101**)



ent-neo- 克罗烷
(ent neo clerodane,**102**)

一、克罗烷二萜的结构

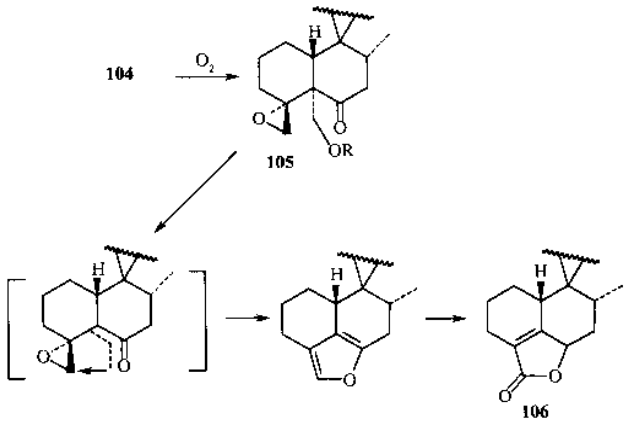
克罗烷是从半日花烷(labdane，**103**)的 C-4 甲基重排转移到 C-5 位上形成 C-19 甲基，C-10 的角甲基转移到 C-9 位上，形成 neo-克罗烷(**104**)[101]。



103

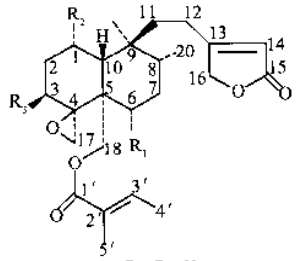
neo-clerodane (**104**)

化合物 **104** 经氧化生成化合物 **105**，最后在 C-6 和 C-18 间形成内酯，构成另一类克罗烷，命名为 nor-neo-clerodane(**106**)。[102]

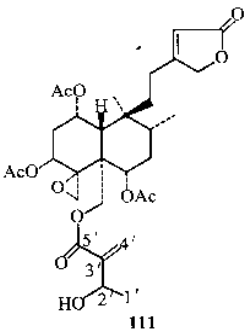


克罗烷二萜多发现于唇形科(Labiatae)植物中，并显示良好的昆虫拒食活性。从金疮小草(*Ajuga*

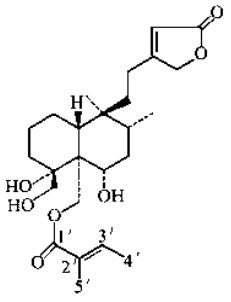
decumbens)分离的多种 neo-clerodane 二萜,金疮小草素 A～G (ajugacumbins A～G,**107～113**)[103-105]和 a-jugamarins A_2(**114**)、G_1(**115**)、H_1(**116**)和 F_4(**117**)[106]。



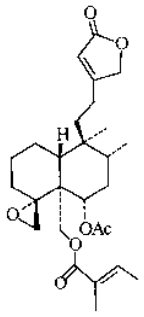
107 R_1=OAc,R_2=R_3=H
108 R_1=OH,R_2=R_3=H
109 R_1=R_2=R_3=OAc
110 R_1=OAc,R_2=H,R_3=OH



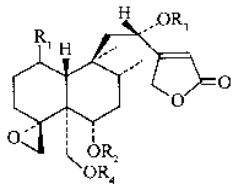
111



112



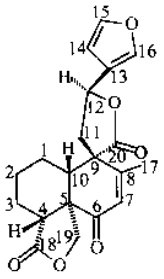
113



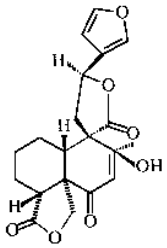
	R_1	R_2	R_3	R_4
114	OTig	Ac	Ac	Ac
115	OTig	Ac	Ac	Ac
116	OMeBu	Ac	Ac	Ac
117	H	Ac	MeBu	Ac

MeBu-(2S)-2 甲基丁基酰基
Tig-顺芷酰基

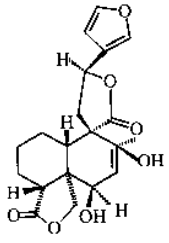
从 *Teucrium pernyi* 中分离得到 C-18 和 C-19 形成内酯的 neo-克罗烷 teupernin A(**118**)、teupernin B(**119**)和 teupernin C (**120**)[107]。



118

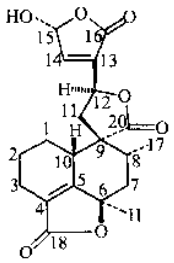


119

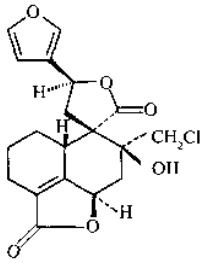


120

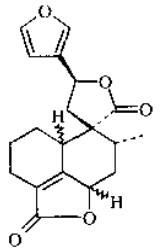
从 *Teucrium japonicum* 植物中,发现了 nor-neo-克罗烷二萜 teaponin (**121**)[108]、teupernin D[109](**122**)。在 *T. japonicum*、*T. chamaedrys* 等植物中发现了 teucvidin(**123**)、teucvin(**128**)和 teuflin(**129**)三种异构体[110-112]。



121

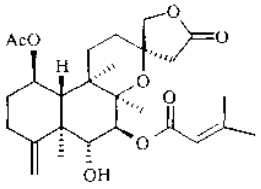


122

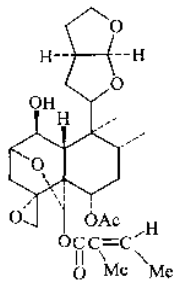


123　H-10α, H-6α
128　H-10β, H-6β
129　H-10β, H-6α

从 *Scutellaria* 属植物中分离得到在 C-8 和 C-9 之间形成螺旋内酯的 neo-克罗烷，如化合物 **124**。像 Clerodin (**100**)类型的 neo-克罗烷二萜也不断从 *Ajuga* 和 *Scutellaria* 属植物中发现，如化合物 **125**，它们都具有昆虫拒食活性[113~114]。



124



125

二、nor-neo-克罗烷二萜的构型

1. 构型与稳定性

teucvidin(**123**)在自然界存在多个异构体，teucvin(**128**)和 teuflin(**129**)现已从唇形科植物中分离到。根据 Dreiding 模型，C-6 和 C-10 位氢必须具有相同的立体化学即 H-6α，H-10α 或 H-6β，H-10β 才具有稳定结构，而在这两个碳上的质子具有相反的构型即 H-6α，H-10β 或 H-6β，H-10α 则不稳定。具有 6α，10β 质子的 teuflin 虽存在于自然界，且已分离得到，但其理化性质却是不稳定的。从 teuflin 的立体模型可以看出，α，β-不饱和-γ-内酯环上的张力较大，该化合物在温和的碱催化条件下，C-10 位易去质子化形成烯醇负离子，后者在动力学控制条件下质子化转变为 5(10)双键衍生物(**126**)，它在热力学控制条件下进一步转变为更稳定的 teucvidin(**123**)或转变为 teucvin(**128**)。

在所有异构体中，teucvin(**128**)看来是最稳定的，它在强碱催化条件下，只是部分形成烯醇负离子，后者少量质子化形成 5 (10)双键衍生物(**127**)，绝大部分的烯醇负离子 C-10 位质子化后又回到稳定的 teucvin (**128**)，而不能形成 H-10α，H-6β 异构体。teucvidin(**123**)在中等强度的碱催化条件下即能烯醇化进而形成 teucvin(**128**)。存在 5(10)双键的衍生物 **126** 和 **127** 都从植物或反应物中分离得到[170~173]。

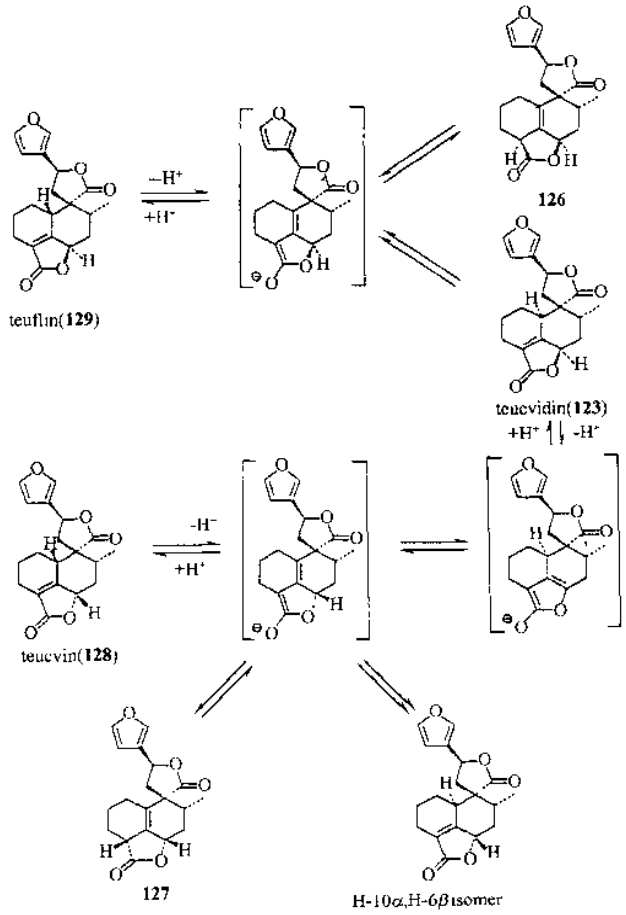
2. nor-neo-克罗烷二萜 CD 谱[115,116]

nor-neo-克罗烷由于存在 α，β-不饱和-γ-内酯，可以用 CD 谱来确定 C-10，C-6 构型，nor-neo-克罗烷二萜可以有下面四种构型：

1)H-10α，H-6β 构型的 nor-neo-克罗烷二萜。它极不稳定，加上它的 α，β-不饱和-γ-内酯的扭力角(torsion angle)，C(**4**)-C(**5**)-C(**8**)-O(**18**)接近 180°，信号极弱，并相互重叠，不能应用 CD 谱测定其构型。

2)H-10β，H-6β 的 nor-neo-克罗烷二萜。例如，teucvin(**128**)在 230nm 呈正的 Cotton 效应。

3)H-10β，H-6α 的 nor-neo-克罗烷二萜。例如，teucvidin (**123**)在 230nm 呈负的 Cotton 效应。



4)H-10β,H-6α 的 nor-neo-克罗烷二萜。例如,teuflin(**129**)在 220nm 呈负 Cotton 效应,在 248nm 呈正 Cotton 效应。

它们的 CD 图谱可见图 8-28。

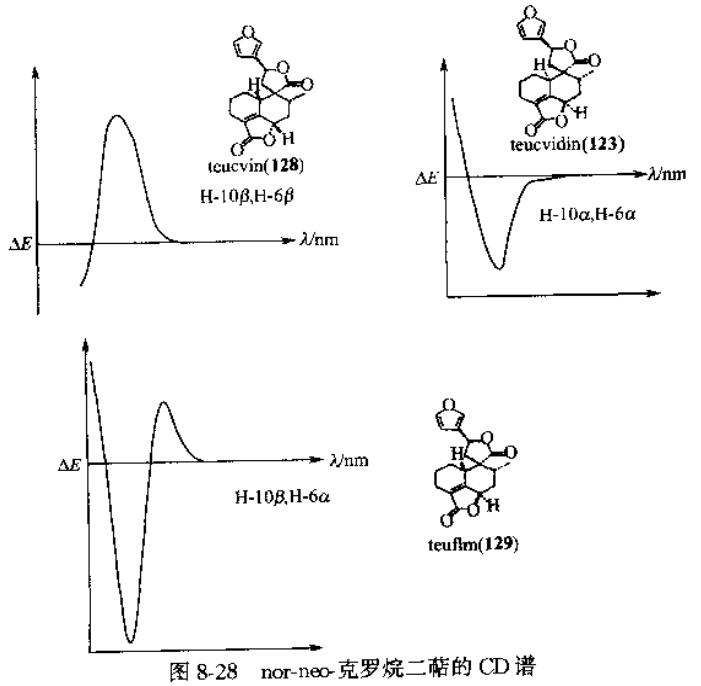


图 8-28 nor-neo-克罗烷二萜的 CD 谱

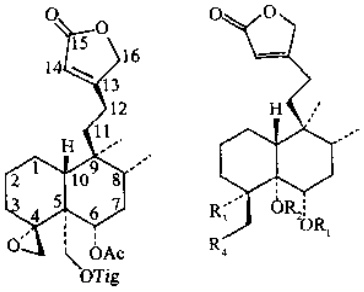
另外，C-12 构型，可以利用照射 Me-17 的 NOE 效应加以判断见表 8-13。

表 8-13　照射 nor-neo-克罗烷 Me-17 的 NOE 增益（单位：%）[117]

C-12	H-12	H-14	H-16
S	0	2～6	1～5
R	8～12	0	0

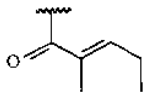
三、克罗烷二萜的昆虫拒食活性[117～120]

为了研究克罗烷二萜的昆虫拒食活性除了化合物 **107** 和 **123** 为已知天然产物外，人工合成了一系 neo-克罗烷衍生物（**127～149**），并测定了它们对亚洲玉米螟[*Ostrinia furnacalis* (Guenée)]的拒食活性，相关数据见表 8-14。



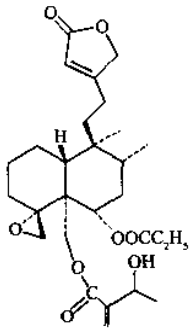
ajugacumbin A

107

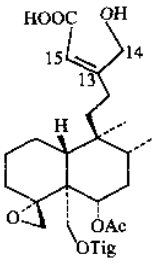


tigloyl = (Tig)

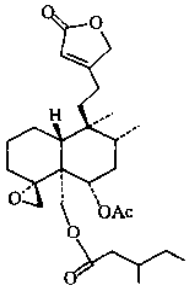
	R_1	R_2	R_3	R_4
127	Ac	Ac	OH	Br
128	Ac	Tig	OH	I
129	H	Tig	β-OH	Br
130	Ac	Tig	OH	Br
131	Ac	Tig	OH	Cl
132	H	Tig	OH	Br



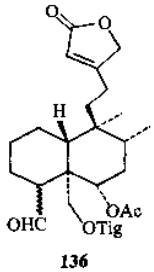
133



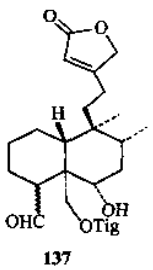
134



135



136



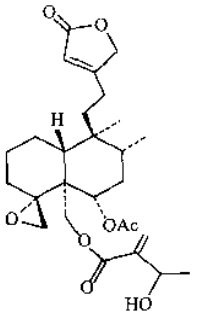
137

表 8 14 克罗烷二萜类化合物对亚洲玉米螟 5 龄幼虫的拒食活性

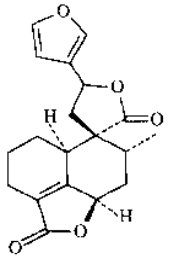
化合物	选择法拒食率(250 μg/mL)/%	非选择法拒食率(500 μg/mL)/%
107	41.3[1)]	34.6(4.9)[2)]
127	7.8	5.2
128	12.3(0.8)	26.0(7.8)
129	34.6	20.1
130	26.3	15.1
131	57.9	43.2(2.3)
132	36.2(6.3)	16.3(0.7)
133	19.0(8.0)	15.4(3.4)
134	3.7	−2.9(3.1)
135	15.0(0.4)	28.0(6.8)
136	39.7(5.2)	29.3
137	6.0	—
123	11.5	−4.4(0.8)
138	26.4	36.4
139	26.9(7.6)	43.1(6.4)
140	26.5	2.8
141	33.9	30.2(4.7)
142	7.5(6.9)	0.8
143	25.3	12.7
144	25.1	16.4
145	31.1(2.9)	21.7(5.5)
146	15.5	9.8
147	1.1	—
148	5.3	5.4
149	2.3	−5.2

1)2 次实验平均值。

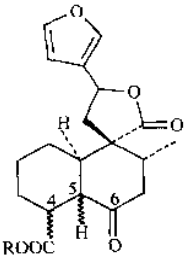
2)3 次实验平均值(标准差)。



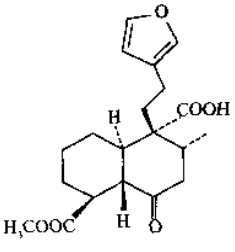
138



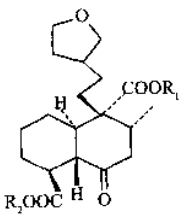
leucvidin
123



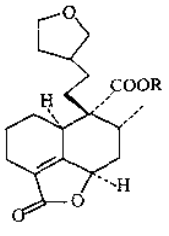
139 R=Me
140 R=Me,5αH
141 R=Me,6=NOH



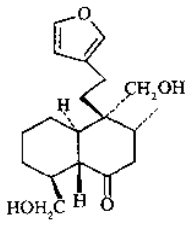
142



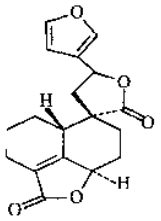
143 R_1=H,R_2=H
144 R_1=R_2=Me



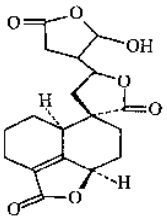
145 R=H
146 R=Me



147



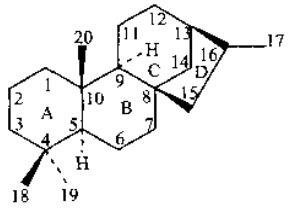
148



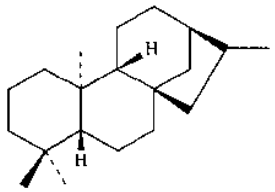
149

第五节　贝壳杉烷二萜

贝壳杉烷(kaurane)二萜为四环二萜，用硒进行脱氢反应可以得到1-甲基-7-异丙基菲(retene)或1,7-二甲基菲(pimarthrene)类似衍生物，说明贝壳杉烷母核是以氢化菲为母核。从生源的角度，可以认为松香烷(abietane)是它的前体。它的结构可以用**150**和**151**表示。**150**的A/B为反式、B/C为反式、C/D为顺式骈环，C-20为β构型，C-5为α构型，D环为β构型，这类构型称贝壳杉烷(kaurane)。**151**的A/B为反式骈环，B/C和B/D为顺式骈环，C-20为α构型，C-5为β构型，D环为β构型，这类结构称ent-贝壳杉烷(ent-kaurane)。



kaurane (**150**)



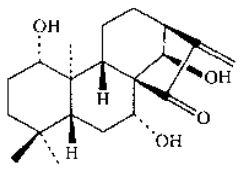
ent-kaurane (**151**)

在天然界中ent-贝壳杉烷二萜发现和研究的较多，主要在香茶菜属[*Rabdosia*（Bl.）HassK]中发现最多。发现的ent-贝壳杉烷二萜在C-17甲基多被脱氢为环外双键，故又常称这类二萜为ent-贝壳杉烯(ent-kaurene)[121,122]。

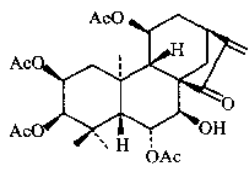
一、ent-贝壳杉烷二萜的结构[121]

1.C-20无氧取代的ent-贝壳杉烷二萜

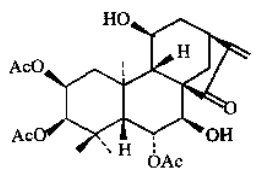
C-20无氧取代的ent-贝壳杉烷二萜化合物的结构可用**151**表示。天然界中分离了多种这类结构。例如，从*Isodon kameba*中分离的kamebanin(**152**)、从冬凌草(*Rabdosia rubescens*)中分离的鲁山冬凌草甲素和乙素(lushanrubescensin A,**153** and B,**154**)[123]。



152

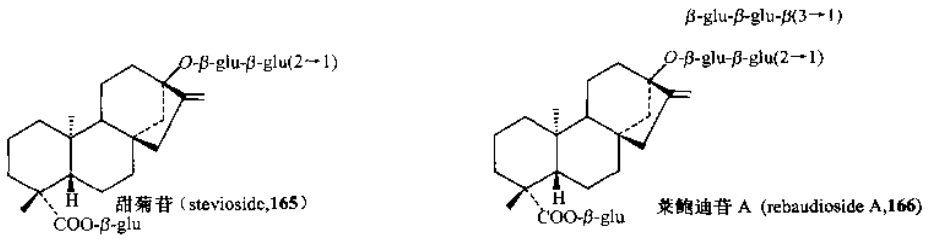


153



154

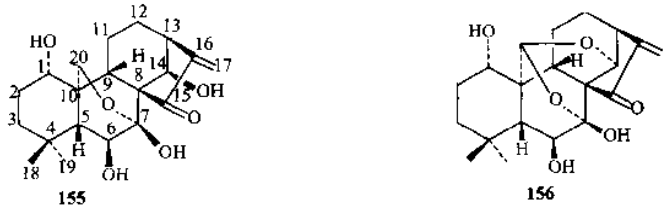
目前，市售的甜菊苷为天然甜味剂，作为蔗糖的代用品，已广泛应用各种饮料中，供患糖尿病，高血压和食用低糖者使用。甜菊苷是从甜叶菊（*Stevia rebaudiana*）中分离的 ent-贝壳杉烷二萜的混合物，其主要成分为：甜菊苷（stevioside，**165**）。近年来发现甜菊叶中所含的另一化合物莱鲍迪苷 A（rebaudioside A，**166**）甜度更高于甜叶菊苷，口感更接近于蔗糖。[135]



2. C-20 氧取代 ent-贝壳杉烷二萜

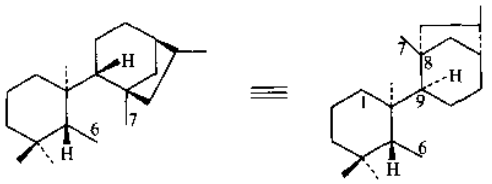
C-20 氧取代 ent-贝壳杉烷二萜化合物的结构来源于 C-20 无氧化的 ent-贝壳杉烷的 C-20 被氧化，然后与 C-7 形成半缩醛或氧桥的结构。

这类化合物可用冬凌草甲素（rubescensin A、oridonin，**155**）和冬凌草乙素（rubescensin B、ponicidin，**156**）为代表，冬凌草甲素在冬凌草中含量最高，约含 0.34%，冬凌草乙素的含量约为 0.05%。冬凌草甲素和冬凌草乙素是冬凌草中抗癌的有效成分[124－126]。

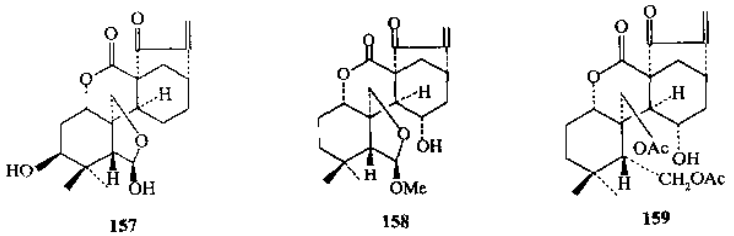


3. 6,7-开环 ent-贝壳杉烷二萜

6,7-开环 ent-贝壳杉烷二萜化合物的结构，是由 ent-贝壳杉烷的 C-6 与 C-7 之间的键发生断裂所产生的，可用下式表示[121]：



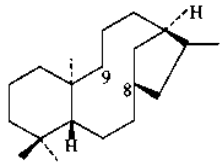
开裂后，C-20 与 C-6 大多形成半缩醛，也有维持开环的形式的存在。C-7 与 C-1 生成一六元环内酯，构成了 6,7 开环 ent-贝壳杉烷二萜的结构，分离自延命草（*Isodon trichocarpus*）中的延命草素（enmein，**157**），分离自毛叶香茶菜（*R. japonica*）的毛叶香菜素 A 和 B（rabdosin A，**158** 和 B，**159**）均属此类结构[122]。



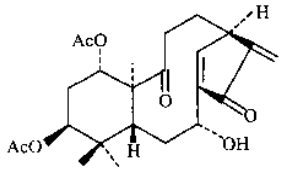
从这类结构可以看出，C-6 与 C-7 发生裂环之后 B 环和 D 环沿着 C-10 和 C-9 键发生旋转，α-亚甲基环戊酮变为 α 构型，C-9 位氢也为 α 构型。

4.8,9 开环 ent-贝壳杉烷二萜

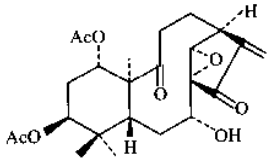
从 C-8 和 C-9 键开裂的 ent-贝壳杉烷可用下式表示[121]：



从 *Rabdosia shikokiana* 分离的 shikodomedin(**160**)和 shikokiamedin(**161**)即为这类型的结构。它的结构实际上已为 6/10/5 三个环稠合而成。五元环中存在有交叉共轭双稀酮(cross conjugated dienone)的结构[122]。



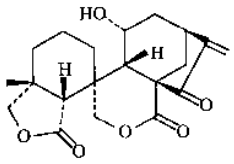
160



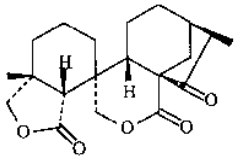
161

5. 螺旋开环 ent-贝壳杉烷二萜

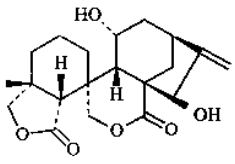
从冬凌草中分离的卢氏冬凌草甲素(ludongnin A,**162**)、卢氏冬凌草乙素(ludongnin B,**163**)和贵州冬凌草素(guidongnin,**164**)为螺旋开环 ent-贝壳杉烷二萜[127,128]。



162



163



164

二、冬凌草甲素和甜菊苷的分离和生理活性

1. 冬凌草甲素的分离

冬凌草甲素的分离流程如图 8-29 所示[134]。

2. 冬凌草甲素和乙素的生理活性[125,126]

冬凌草甲素和乙素对人体食管癌 109 细胞株和人体肝癌 BEL-7402 细胞株均有明显抑制作用，冬凌草甲素对上述两种细胞株的 IC_{50}为 8r/mL，冬凌草乙素则 IC_{50}为 4r/mL。冬凌草甲素对人体食管鳞癌细胞株 CaEs-17 的 IC_{50}为 2.5r/mL。动物实验证明，冬凌草甲素 10 mg/kg 或乙素 20 mg/kg 腹腔注射，使动物的平均存活期明显延长，部分动物可长期存活，对肝癌及组织细胞肉瘤实体型亦有明显抗肿瘤作用。冬凌草甲素 LD_{50}(腹腔注射)(55.8±5.7) mg/kg。

临床应用表明，冬凌草甲素和乙素制剂对早期食管癌疗效明显，对中、晚期患者可改善病人症状，并可使

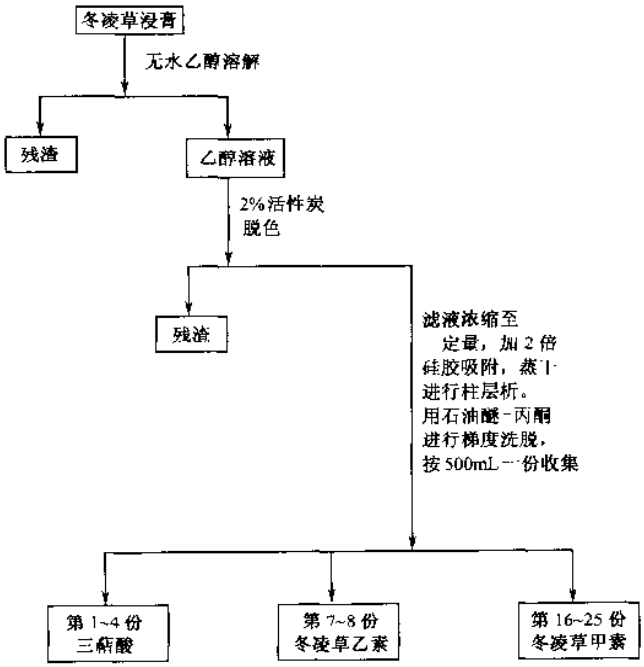


图 8-29 冬凌草甲素的分离流程图

部分瘤体缩小。

3. 甜菊苷的分离流程

所得到的为市售产品，是以甜菊苷为主的混合物。甜叶菊的提取流程如图 8-30 所示[137]。

4. 甜菊苷的用途是作为食品添加剂，为蔗糖的代用品[135]

甜菊总苷从分子结构式上看，分子上都有 3～5 个数量不等位置不同的葡萄糖基与槐糖基，故甜度很高。甜菊苷类 C-13 位槐糖基是甜味的主要功能基，ent-贝壳杉烯母核及 C-19 位酯基为助味剂，影响着化合物的甜味强度和味度。其中莱鲍迪苷 A(rebaudioside A，**166**)口感更接近蔗糖，甜度也最大。具体数据见表 8-15。

表 8-15 各种二萜的甜度

名称	甜菊苷 (165)	斯替维伯苷 (167)	莱鲍迪苷 A (166)	莱鲍迪苷 B (168)	莱鲍迪苷 C (169)	莱鲍迪苷 D (170)	莱鲍迪苷 E (171)	杜尔可苷 A (172)	甜菊醇 (173)
甜度/倍[1)]	100～270	10～15	150～300	10～15	40～60	200～250	150～200	40～60	味苦

1)以蔗糖甜度为 1。

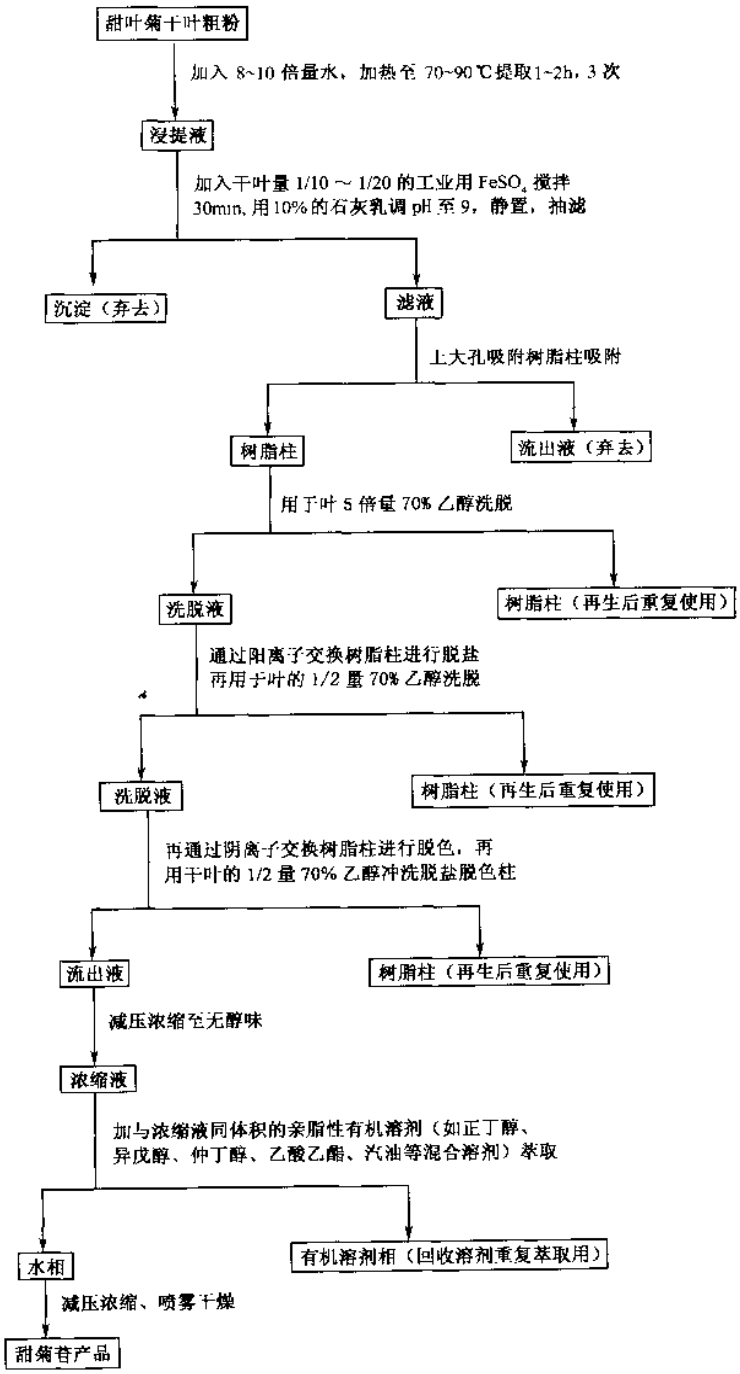
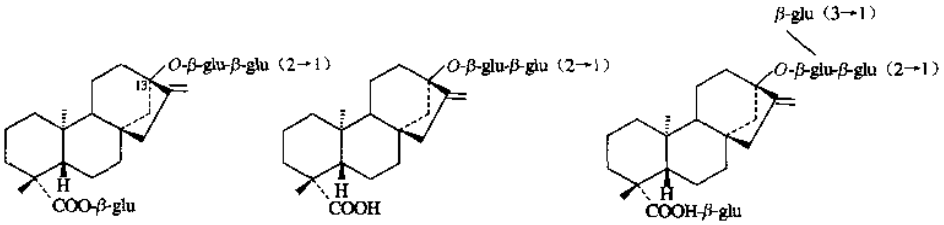
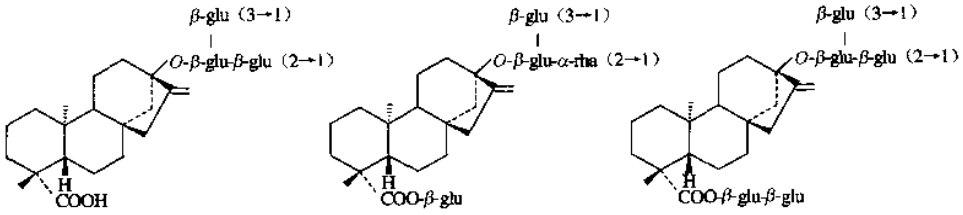


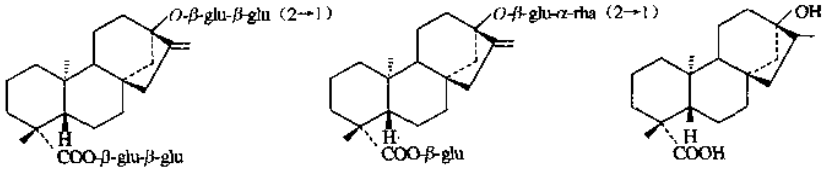
图 8-30　甜叶菊的提取流程图



甜菊苷（stevioside, **165**） 斯替维伯苷（steviobioside, **167**） 莱鲍迪苷 A（rebaudioside A, **166**）



莱鲍迪苷 B（rebaudioside B, **168**） 莱鲍迪苷 C（rebaudioside C, **169**） 莱鲍迪苷 D（rebaudioside D, **170**）

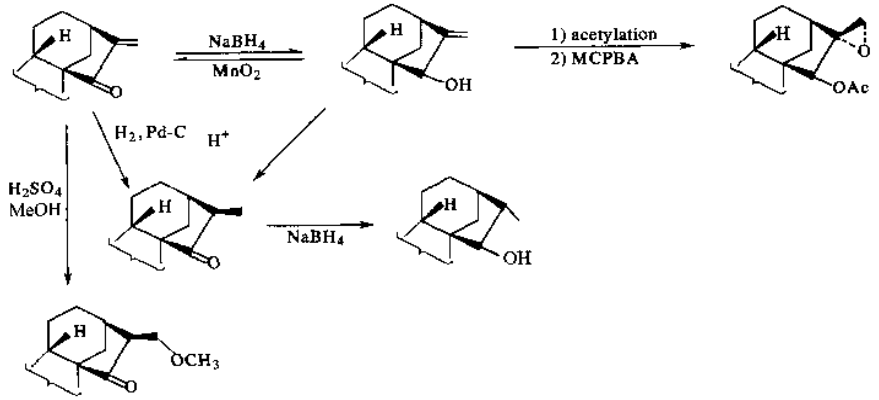


莱鲍迪苷 E（rebaudioside E, **171**） 杜尔可苷 A（dulcoside, **172**） 甜菊醇（steviol, **173**）

三、ent-贝壳杉烷的化学反应[121]

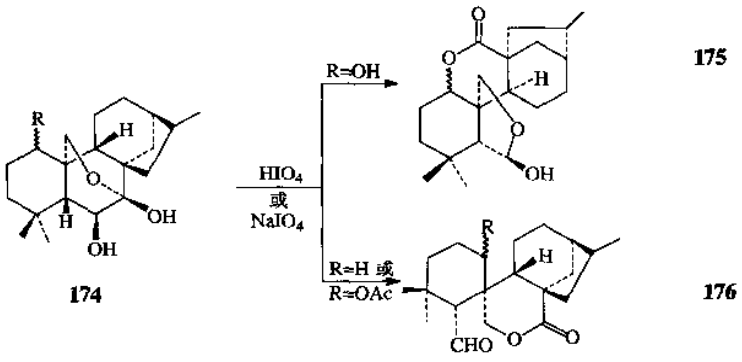
1. D 环的化学反应

由于 D 环存在 α-亚甲基环戊酮，可以进行下列反应：



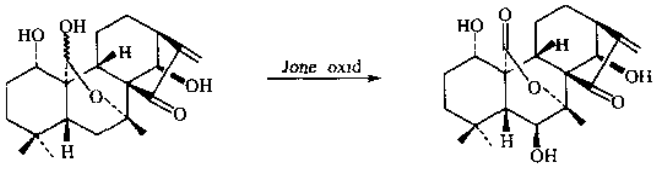
2. C-20 氧有取代的 ent-贝壳杉烷化学反应

此类二萜若在 C-1 位上有羟基取代，经过碘酸氧化将发生转化。例如，化合物 **174**，若 R = OH 时，经过碘酸处理氧化重排为 6,7 开环 ent-贝壳杉烷如化合物 **175**。若化合物 **174** R = H 或 OAc 基，则转化为螺旋开环 ent-贝壳杉烷如化合物 **176**。这一反应对确定 C-1 的取代和构型极为有用。

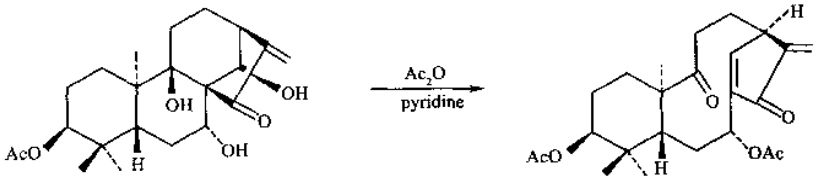


174　　175　　176

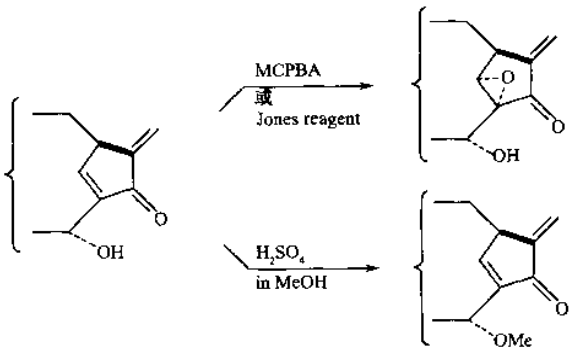
C-20 若有羟基取代，可以氧化成羰基，即



8,9 开裂 ent-贝壳杉烷可以经过 ent-贝壳杉烷转化而得，即



用邻氯过苯甲酸（*m*-chloroperbenzoic acid，MCPBA）或 Jones 氧化，可将 shikoccin（**160** 的 C-1 无 AcO 基）的环内双键氧化为环氧，即



四、ent-贝壳杉烷的相对构型

ent-贝壳杉烷二萜的结构中，D 环呈 β 构型，C-20 的甲基为 α 构型。C-5 的氢为 β 构型。可以将 α-亚甲基环戊酮的环外亚甲基氢化，生成环戊酮做 CD 谱，根据羰基的八区律可知 CD 谱在 300nm 左右的 Cotton 效应呈负值。相反贝壳杉烷二萜的结构，由于 C-20 甲基呈 β 构型，C-5 的氢呈 α 构型，CD 谱的 Cotton 效应在 300nm 左右呈正值。用 CD 谱可以确定它们构型[129]。

另外，利用 NOE 效应也可以判断 ent-贝壳杉烷二萜的构型，如 kamebanin（**178**，图 8-31）的 C-20 甲基和 C-14 氢原子之间有 NOE 增益，证明了 C-20 位甲基为 α 构型。又如冬凌草丁素（rubescensin D，**179**，图 8-32）的 C-19 甲基与 C-20 的氢之间有 NOE 增益，说明 C-20 为 *R* 构型。

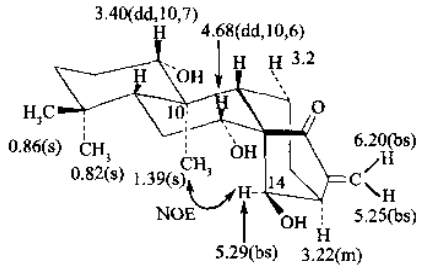


图 8-31 kamebanin(**178**)的 NOE 示意图[129]

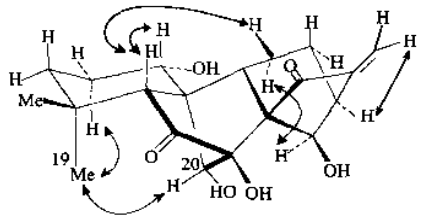


图 8-32 冬凌草丁素(**179**)的 NOE 示意图[130]

五、冬凌草甲素 A 的绝对构型[131,132]

将冬凌草甲素(oridonin,**155**)与过量过碘酸钠反应,得化合物 **180**。

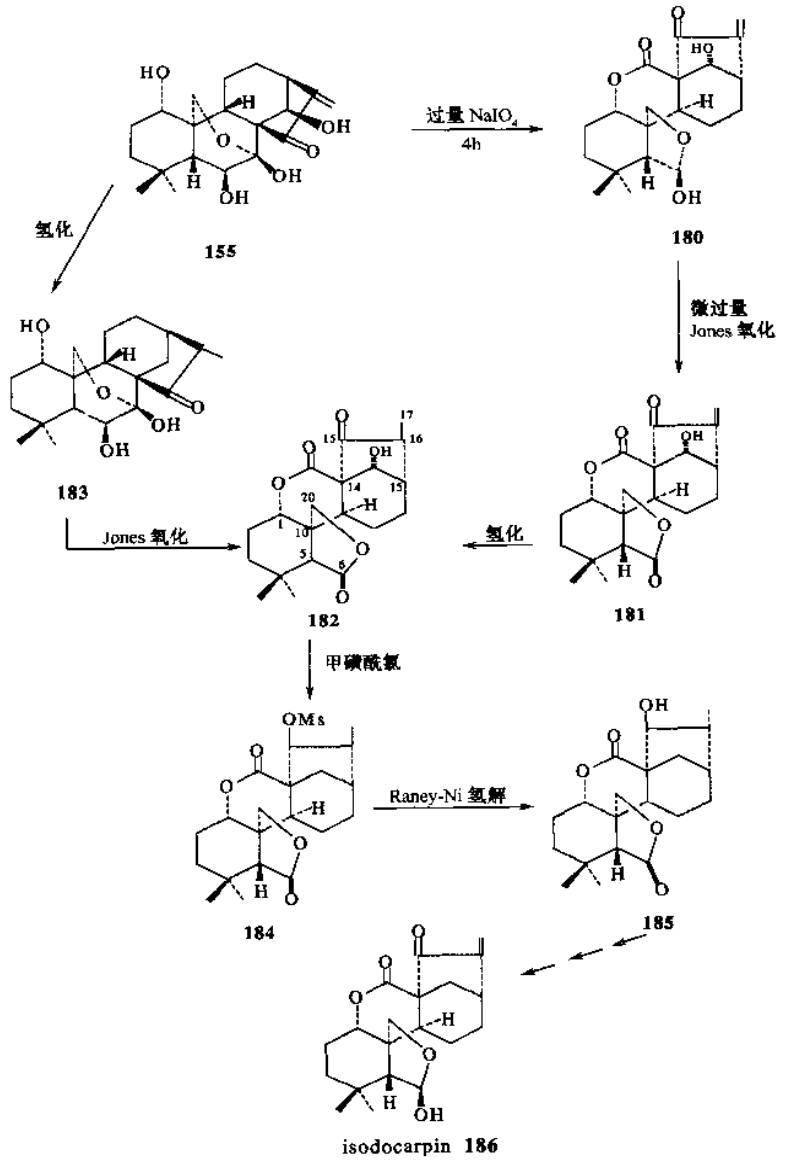


图 8-33

将化合物 **180** 进行 Jones 氧化，生成化合物 **181**。将化合物 **181** 进行氢化得 **182**。也可直接用化合物 **155** 首先氢化得化合物 **183**，然后进行氧化，同样得到化合物 **182**，将化合物 **182** 磺酰化，得化合物 **184**，再经氢解而得化合物 **185**，化合物 **185** 为去氢-四氢-isodocarpin，再经过若干步骤便转化为已知化合物 isodocarpin (**186**)。化合物 **185** 和化合物 **186** 成功转化，为 C_1-H 为 S-构型提供有力证据，因已知化合物 **185** 和化合物 **186** 的 C_1-H 的绝对构型已知为 S，即 C_1-OH 为 α 构型(图 8-33)。这样这证明了冬凌草甲素的 C_1-H 为 α 构型。

六、冬凌草甲素的半合成

利用从尾叶香茶菜(*R. excisa*)中获得的鄂西香茶菜甲素(kamebakaurin，**187**)对冬凌草甲素(**155**)进行半合成的路线如图 8-34 所示[133]。

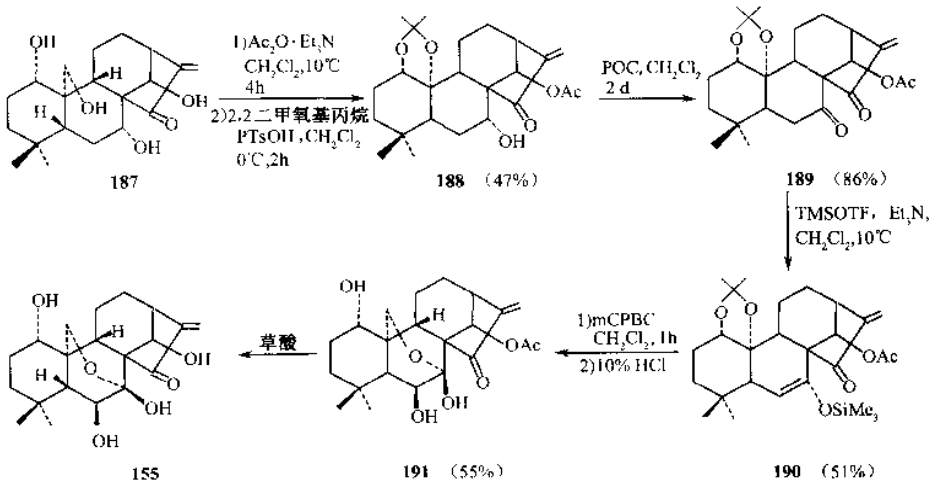


图 8-34

用化合物 **187** 合成化合物 **155**，首先要在 C-7 位引入羰基，与 C-20 位羟基形成半缩酮。另外，还将 C-6 位引入 β-羟基。为此，事先将保护 C-1、C-14 和 C-20 位的羟基。C-14 羟基的保护基基团不能过大；否则因 C-14 位上保护基位阻太大阻止 C-6 羟基的引入。在三乙胺、二氯甲烷中以等当量的乙酐在 10℃ 时，乙酰化 4h。C-14 羟基酰化。然后用 2,2-二甲基丙烷保护 C-1 和 C-20 双羟基。再用 PDC 氧化 C-7 羟基获得关键产物(**189**)。用三氟甲磺酸三甲基硅酯(TMSOTF)烯醇硅醚化保化合物 **190**，然后用 mCPBA 环氧化，不分离而直接用 10%稀盐酸，同时脱去硅基 C-1、C-20 双羟基的异丙叉保护基得 14-乙酰化冬凌草甲素(**191**)，最后应用草酸水解获冬凌草甲素(**155**)得率 76%。

七、甜菊苷的结构修饰

甜叶菊二萜的甜味成分为甜菊醇(steviol)的衍生物，糖基的不同甜度和口感存在着显著的差异，其中以莱鲍迪苷 A(rebaudioside A)最优。Kenji Mizutani 等[136]提出“甜度和 C-13 位与 C-19 位糖基上糖的个数比例相关”。并在此基础上进行了一系列实验，以悬钩子苷(rubusoside)和甜菊苷(stevioside)为起始原料，在碱性条件下将 C-9 位酯键糖基水解，用乙酸酐和吡啶(1∶1)C-13 位糖基酰化，酰化产物与 α-乙酰溴-D-半乳糖作用，再在无水甲醇中用 BaO 脱 C-13 位糖基中的乙酰基，然后通过环糊精葡糖转移酶(CGT-ase)和可溶性淀粉选择性延长 C-13 位糖基，结果证明 C-13 位上连有 3～4 个糖基化合物甜度最高，同时，研究结果表明甜菊苷的系列产物甜度高于悬钩子苷的系列产物，证明了甜度和口感不但和糖位置有关，还与糖链的构型有关。具体结果见表 8-16。

表 8-16 甜菊苷衍生物的相对甜度和味质

名称	相对甜度	味质	糖基数
S(甜菊苷)	143	0	2
R(悬钩子苷)	114	−2	1
RA(莱鲍迪苷 A)	243	+2	3
S/Gal	129	−2	2
S/Gal/1[1)]	236	+5	3
S/Gal/2	289	+4	4
S/Gal/3	143	−1	5
S/Gal/4	152	−3	6
R/Gal	104	−4	1
R/Gal/1	167	−1	2
R/Gal/2	312	+3	3
R/Gal/3	203	+1	4
R/Gal/4	111	−3	5

1)糖的数目。

八、ent-贝壳杉烷二萜的光谱[121]

有关 ent-贝壳杉烷二萜的光谱可参阅表 8-17 和表 8-18。

表 8-17 D 环的光谱数据

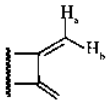
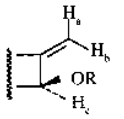
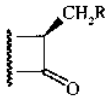
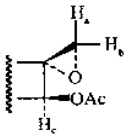
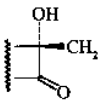
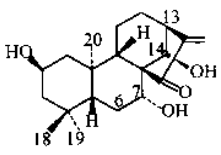
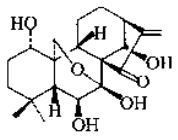
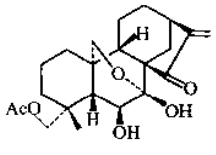
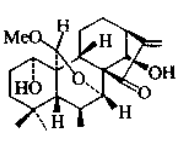
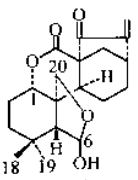
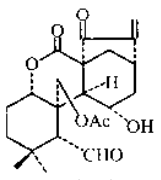
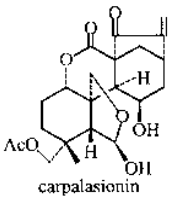
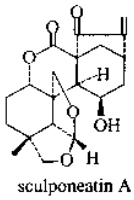
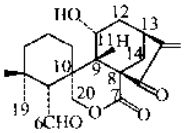
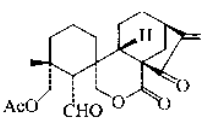
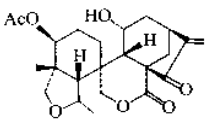
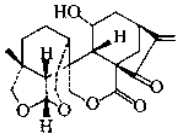
D 环氧化形式					
			R=H 或 Ac		
化合物	mebadonin	epinodosmol (R=H)	isodotricin (R−OMe)	16,17-epoxyshiko-kianal acetate	trichorabdonin
γ_{max}/cm^{-1}	1730(>=O) 1640(>=-)	1663(>=)	1755 (>−O)	—	1750(>=O)
λ_{max}/nm	232 (ε 8230)	—	—	—	—
δ	5.29(t*,Ha) 5.87(t*,Hb) *J=1 Hz	5.25(brs,Ha) 5.58(brs,Hb) 5.54(brs,He)	3.15(s. OMe) 3.58(AB part of ABX type)	2.77(d*,Ha) 2.97(d*,Hb) 5.28(s,He) *J=4.6Hz	1.49(s. 16-Me)

表 8-18 ent-贝壳杉烷二萜的氢谱数据

C-20 无氧和 C-20 有氧取代二萜	 umbrosin A	 oridonin (155)	 longikaurin C	 nebacetal A
δ C-6-H	—	4.29(1H,d,J=7 Hz)[1)]	4.30(1H,d,J=6.5 Hz)	—
C-7-H	4.45 (1H, dd, J = 13, 5 Hz)	—	—	4.70(1H,dd,J=4,2 Hz)

续表

C-14-H	4.90(1H,brs)	5.35(1H,s)	—	5.10(1H,d,J – 1.5 Hz)
C-18-H_3 C-19-H_3(或-H_2)	0.85,0.90 1.04 (each 3H,s)	1.13,1.20 (each 3H,s)	1.33(3H,s) 4.40,4.68(each 1H, AB type,J - 11H_Z)	0.76,0.93 (each 3H,s)
C-20-H_3 (- H_2 或 - H)		4.42,4.78(each 1H, AB type,J = 10 Hz)	4.34,4.62(each 1H, AB type,J – 11 Hz)	5.46 (1H,d,J = 1 Hz)
6,7 开环二萜	 isodocarpin	 isodonal	 carpalasionin	 sculponeatin A
δ C-1-H	4.68(1H,t,J - 8H_Z)	4.07(1H, dd, J – 10, 12 Hz)	—	5.62(1H, dd, J = 6 , 10 H_Z)
C-6-H	5.73(1H,s)	9.90(1H,d,J = 3 Hz)	5.98(1H,S)	6.13(1H,d,J = 5 Hz)
C-18-H_3 C-19-Hz	0.97,1.02(each,3 Hz, s)	1.01,1.10(each 3H,s)	1.14(3H,s) 4.26,4.58(each1H, ABd, J - 12 Hz)	1.06(3H,s) 3.47,4.08(each 1H,ABd, J = 8 Hz)
C-20-H_2	4.26,4.41(each 1H,ABd, J - 9 Hz)	5.08[2](2H, AB type, J – 13 Hz)	4.38,4.57(each 1H,ABd, J - 9 Hz)	4.18,4.34(each 1H,ABd,J = 10 Hz)
螺旋开环二萜	 trichorabdal A	 effusin	 trichorabdal F[3]	 sculponeatin C
δ C-1-H	—	—	—	4.64(1H,ddd,J = 1.3,3 Hz)
C-6-H	10.03(1H,d,J = 3Hz)	9.75(1H,d,J – 5Hz)	5.60(1H,d,J = 3Hz)	5.84(1H,d,J - 4Hz)
C-18-H_3 C-19-H_3 (C-19-H_2)	0.97,1.00(each 3H,s)	1.02(3H,s) 3.55,3.77(each 1H,ABd, J = 9 Hz)	1.06(3H,s) 3.53,4.01(each 1H,ABd, J = 9 Hz)	1.11(3H,s) 3.70,3.89(each 1H,ABd,J = 8 Hz)
C-20-H_2	4.71,5.10(each 1H,ABd, J = 11 Hz)	4.16, 4.22 (each 1H, ABd,J = 10 Hz)	4.41,4.79(each 1H,ABd, J = 11 Hz)	4.36,5.33(each 1H,ABd,J = 12 Hz)

1)After addition of D_2O。
2)Value at center of the AB-type。
3)Major C-6-isomer。

第六节　大环二萜

本节所介绍的大环二萜(macrocyclic deterpene)是指大戟科(Euphorbiaceae)和瑞香科(Thymelaeaceae)的大环二萜。所谓大环二萜是二萜结构中存在有六元环以上的环状结构。它们一般都有较强的毒性和生理活性。例如,一方面有刺激性或辅助致癌(tumor-promotion)的毒性;另一方面又显示细胞毒性。当然有的二萜只显现后者;后者作为药用的生理基础。民间用以治疗结核,牛皮癣,疥疮和无名肿毒,尤其是抗肿瘤引起人们的关注。这些二萜是一个具有特殊生理活性,同时又是一个尚待开发、期望能成为治疗人类重大疾病的药源,是一个充满希望的药源,具有重要价值。

大戟科和瑞香科植物含有多种二萜化合物,已知大戟属二萜的骨架已有 14 种,新的骨架和化合物还在不断地发现[138-141]。现将常见的大环二萜骨架列于图 8-35。

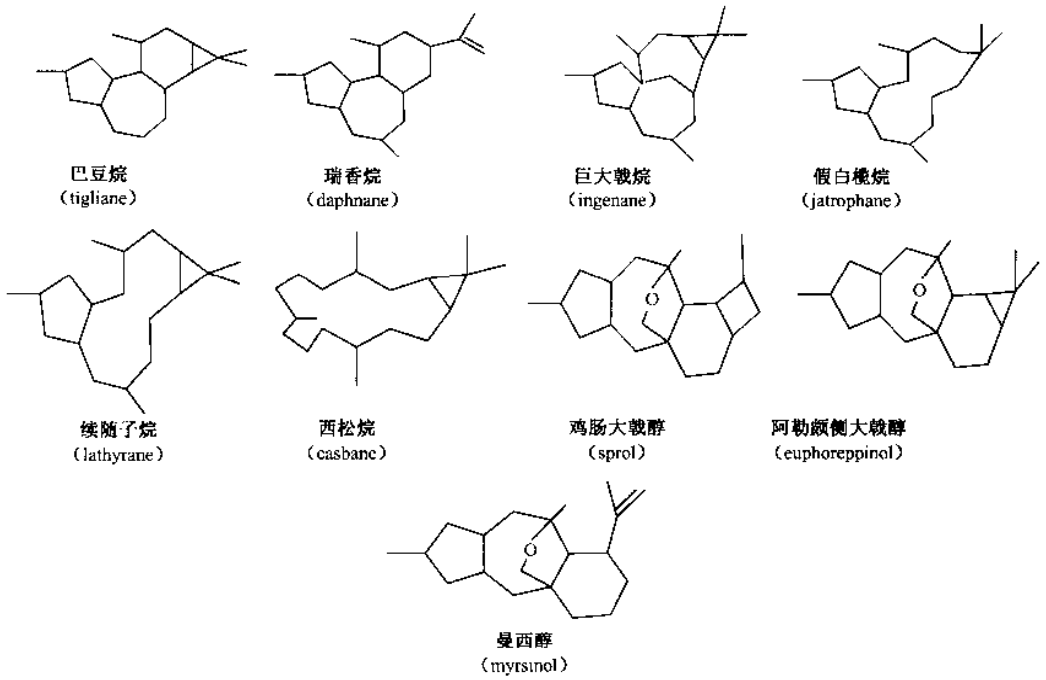
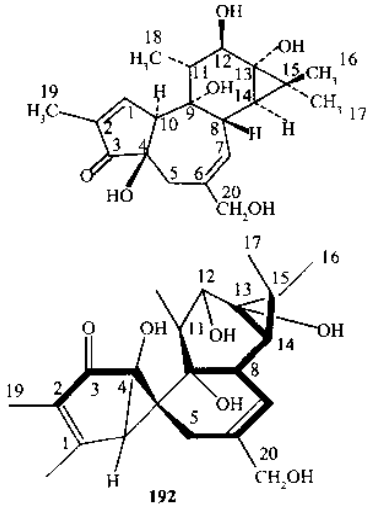


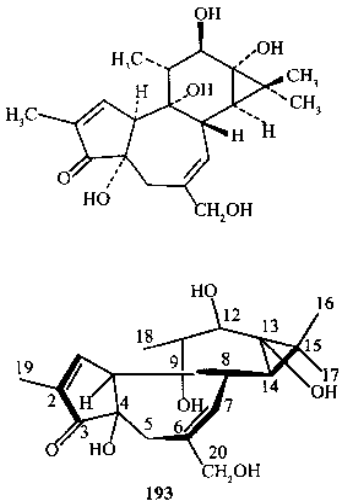
图 8-35 大戟科和瑞香科中常见的大环二萜的骨架

一、巴豆烷二萜

巴豆烷(tigliane)二萜具有强烈的刺激性、致炎和辅助致癌的毒性。巴豆烷二萜的结构骨架,是以 5/7/6/3 四个环稠合而成的。A/B 环大多以反式稠合,少数巴豆烷也有顺式稠合,顺式稠合以 4α-命名。例如,大戟二萜醇(phorbol,**192**)的 A/B 环为反式稠合,4α-大戟二萜醇(4α-phorbol,**193**)的 A/B 环为顺式稠合。大戟二萜醇和 4α-大戟二萜醇可用 CD 谱加以区别,前者的 Cotton 效应为 +220nm,后者的 Cotton 效应为 −250nm(见图 8-36)。大戟二萜醇 B/C 环为反式稠合,C/D 环为顺式稠合。大戟二萜醇具有多个羟基,位置在 C-4、C-9、C-12、C-13 和 C-20。C-3 位上有一个羰基,$C_{1,2}$和 $C_{6,7}$各一个双键,C_3-羰基和 $C_{1,2}$双键形成一个 α,β-不饱和酮。大戟二萜醇多以酯的形式存在。常见的有 4-去氧大戟二萜醇(4-deoxy-phorbol)、12-去氧大戟二萜醇(12-deoxyphorbol)、12-去氧-16-羟基大戟二萜醇(12-deoxy-16- hydroxyphorbol)、16-羟基大戟二萜醇(16-hydroxy phorbol)等的酯存在,在大戟属植物中主要以 12-去氧大戟二萜醇酯较多,主要以单酯、双酯或三酯的形式存在[138,139]。



192



193

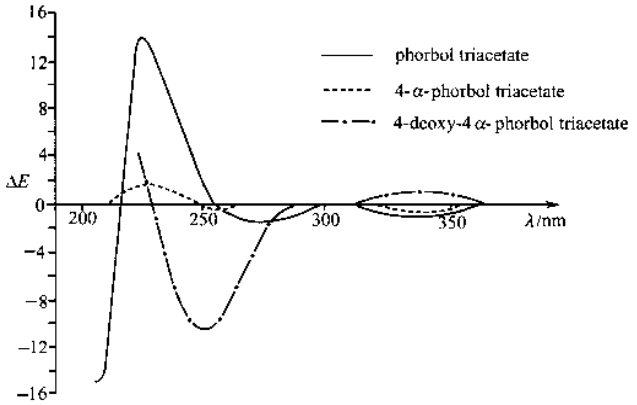


图 8-36　大戟二萜醇三乙酸酯和 4α-大戟二萜醇三乙酸酯的 CD 谱

巴豆烷二萜刺激性最强或称具有开放性刺激(free irritant)的为 12-*O*-十四烷酰基大戟二萜醇-13-乙酸酯(12-*O*- tetradecanoyl-phorbol-13-acetate)，简称 TPA 或称巴豆油因子 A_1(croton oil factor A_1)，其 ID_{50}^5：0.010nmol/耳，ID_{50}^{24}：0.016nmol/耳[142]。

大戟二萜醇-12,13-双酯被公认为致炎和辅助致癌因子。12,13,20-三酯被称为具有隐性刺激(cryptic irritant)的巴豆因子 S(croton factor S)，其刺激性较弱。因为 C-20 位羟基是刺激性毒性基团，C-20 被酯化后，刺激性减弱，C-20 的酯基被水解后，C-20 位成为羟基，刺激性显现出来，故称隐性刺激[143]。

TAP 和棉花因子 S 的结构如图 8-37 所示[143]。

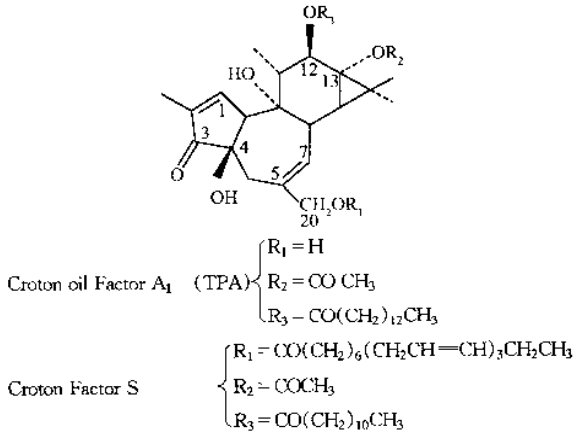
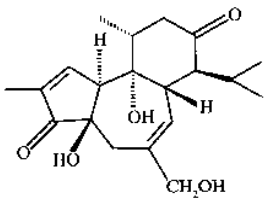
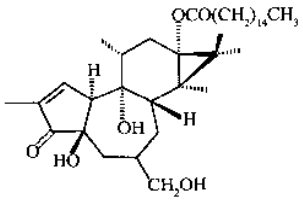


图 8-37

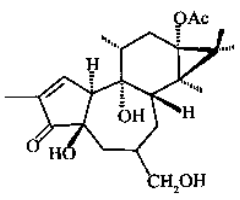
大部分巴豆烷二萜都从生长在国外的大戟属植物中分离出来[138,139]。从生长在我国的绿玉树(*Euphorbia tirucalli*)、铁海裳(*E. milli*)及蛇皮掌(*E. lactea*)的乳汁中也分离出了多种大戟二萜醇的酯[144]。从狼毒大戟(*E. fischeriana*)分离的三种巴豆烷二萜，分别为化合物 **194**、化合物 **195** 和 prostratine (**196**)[145]。新近从 *E. obtusifolia* 和 *E. pithyusa* 等大戟植物中分离出多种大戟二萜酯[146~149]。



194

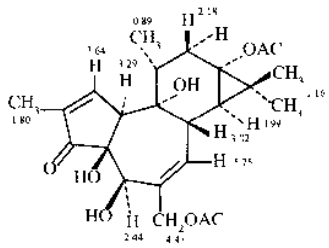


195

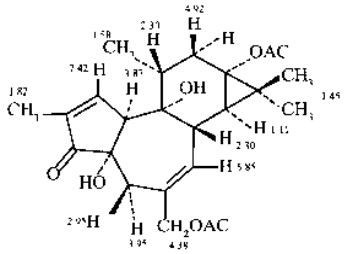


196

大戟二萜醇的光谱数据如图 8-38 所示。



12-去氧大戟醇二萜二乙酯的氢谱数据（$CDCl_3$）

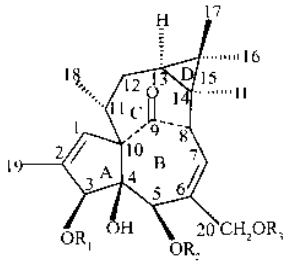


4α-大戟二萜醇的氢谱数据（Py-d_5）

图 8-38

二、巨大戟烷二萜

巨大戟烷(ingenane)型二萜酯是大戟科中发现较早，数目较多的二萜，并有刺激致炎和辅助致癌的作用。巨大戟烷二萜的基本母核，如巨大戟醇(ingenol，**197**)，是由 5/7/7/3 四个环稠合而成，C-8 和 C-10 间存在一个酮桥，$C_{1,2}$的双键存在于 A 环，$C_{6,7}$的双键存在于 B 环，C-4 为 β-羟基，说明 A/B 环为反式骈环。一个环丙烷构成 D 环。巨大戟醇的结构是以巨大戟醇三乙酸酯(**198**)的结晶，利用 X 射线衍射加以确定的[139]。

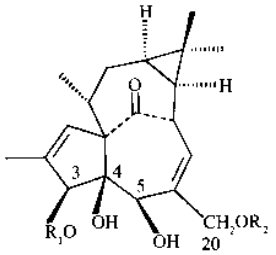


197 $R_1=R_2=R_3=H$

198 $R_1=R_2=R_3=Ac$

大戟科植物甘遂(*Euphorbia kansui*)，含有多种巨大戟二萜化合物，它们都存在于乳汁中。

从钩腺大戟(*E. sieboldiana*)分离得到 iegenol-20-palmitate(**199**)和甘青大戟(*E. micractina*)分离得到 20-*O*-acetylingenol-3-*O*(2″*E*,4″*Z*)-decadienoate (**151**)[150-152]。



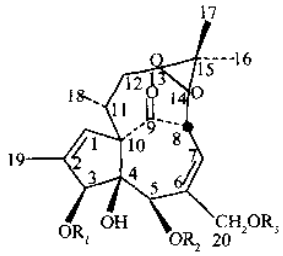
199 $R_1=H$, $R_2=CO-(CH_2)_{14}-CH_3$

200 $R_1=$(2″*E*,4″*Z*)-decadienoyl, $R_2=Ac$

另外，从铁海棠(*E. milli*)根和茎中分离得到七个巨大戟二萜，milliamines A-G(**201**～**207**)。它们都是巨大戟二萜醇的肽酯[153]。

巨大戟二萜是大戟科植物具有刺激性的主要成分，除了具有刺激性外，还显示辅助致癌作用。C-20 的羟基是显现刺激性的主要基团。例如 3-*O*-tetradecanoylingenol 的 ID_{50}^{24}为 0.01nmol/耳，但 20-去氧巨大戟醇-5-酰基酯几无刺激性($ID_{50}^{24}>100$nmol/耳)。C-20 被乙酰化的 milliamine A (**201**)其刺激性比存在有 C-20 羟基的 milliamine C (**203**) $ID_{50}^{24}=0.0066$nmol/耳要低得多。虽然，化合物 **203** 的刺激性很强，但辅助致癌作用却没有[142]。巨大戟三乙酸酯(**198**)为神经生长因子促进剂[154]。

巨大戟二萜的氢核磁共振如图 8-39。



201　R_1 = X; R_2 = R_4 = H; R_3 = $COCH_3$(milliamineA)
202　R_1 = R_2 = R_4 = H; R_3 = X(milliamine B)
203　R_1 = X; R_2 = R_3 = R_4 = H(milliamine C)
204　R_1 = R_4 = H; R_2 = X; R_3 = $COCH_3$(milliamine D)
205　R_1 = X; R_2 = $COCH_3$; R_3 = R_4 = H(milliamine E)
206　R_1 = R_4 = H; R_2 = Y; R_3 = $COCH_3$(milliamine F)
207　R_1 = Y; R_2 = R_3 = R_4 = H(milliamine G)

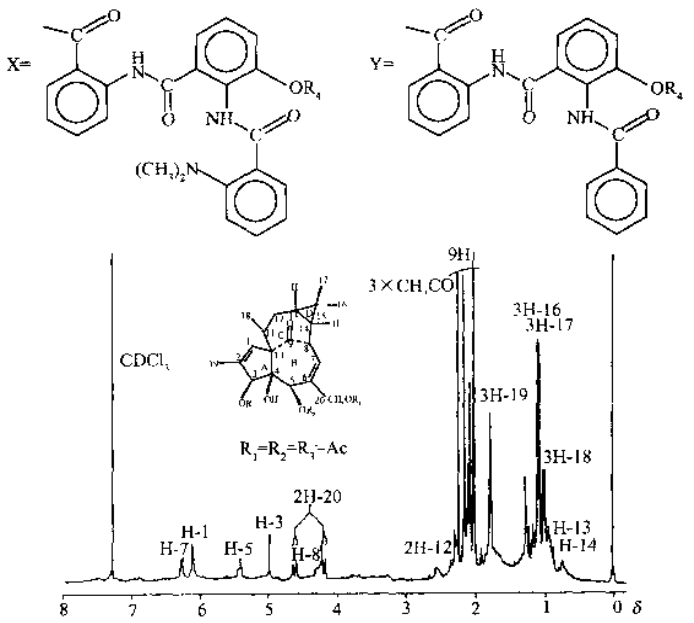


图 8-39　巨大戟醇三乙酸酯的核磁共振图

化合物 **198** 的质谱的解裂过程如图 **8**-40 所示[138]。

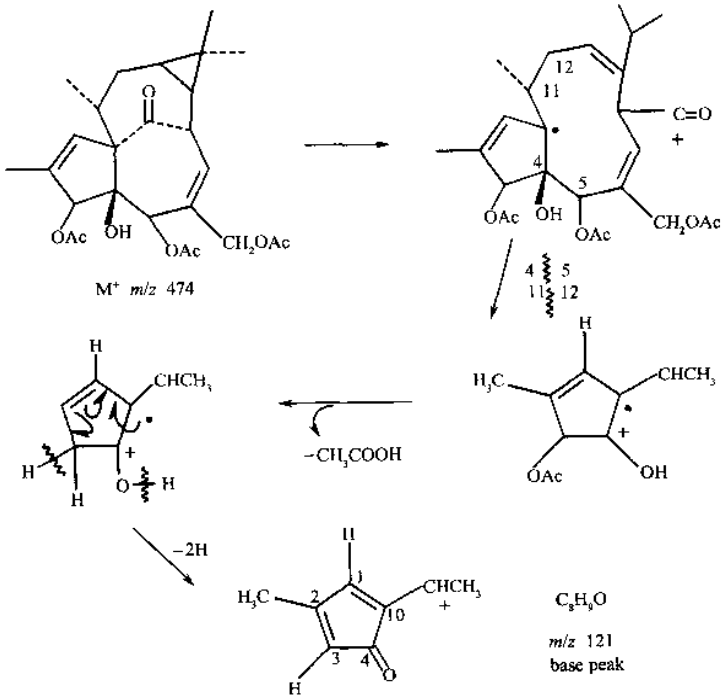


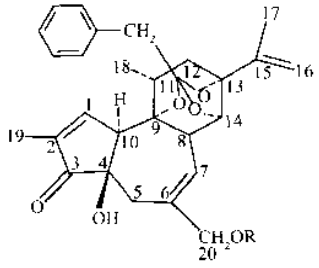
图 8-40　巨大戟醇三乙酸酯的质谱解裂图

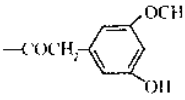
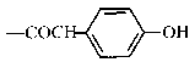
三、瑞香烷二萜

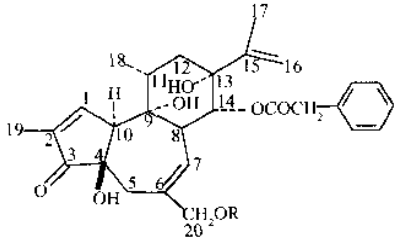
瑞香烷(daphnane)二萜的结构是从大戟二萜醇的D环开裂后，于C-13位形成异丙烯基，故瑞香烷二萜结构的骨架为5/7/6三个环稠合而成。特别的地方是在C环中于C-9、C-14和C-13形成一苯甲酸的原酸酯(orthoester benzoate)，A/B环为反式稠合，B/C环为顺式稠合，$C_{1,2}$和$C_{6,7}$各有一个双键，C-3位存在一个羰基。瑞香烷二萜的母核应用X衍射分析予以证明[138]。

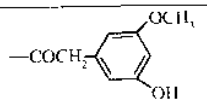
存在于大戟属植物中的瑞香烷二萜属于树脂大戟醇(resinifesnol)酯，其中有树脂大戟毒素(resiniferatoxin)、丁亚毒素(tinyatoxin)、原树脂大戟毒素(pro-resiniferatoxin)、20-去酰基树脂大戟毒素(20-desacylresiniferatoxin)。它们的结构如表8-19所示[138]。

表 8-19



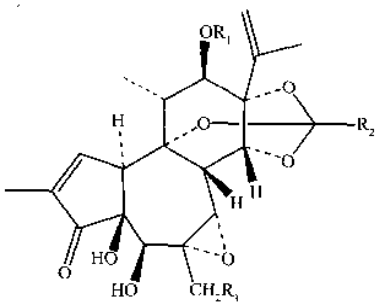
化合物	R	植物来源
resiniferatoxin		*E. resinifera* *E. unispina* *E. poisonii*
20-desacylresiniferatoxin	H	*E. resinifera*
tinyatoxin		*E. poisania*



pro resiniferatoxin		*E. resinifera* *E. poisonii*

瑞香二萜同样具有强烈的刺激性，在大戟属植物中发现的数量不多。

中国科学院上海药物研究所于1975年在瑞香科植物芫花(*Daphne genkwa*)的根中，分离得到引产成分，即芫花酯甲(yuanhuacine，**208**)和芫花酯乙(yuanhuadine，**209**)。继后又从黄瑞香(*D. giraldii*)和唐古特瑞香(*D. tangutica*)等植物中分离了一系列化合物，都具有引产作用。芫花酯甲和芫花酯乙已在临床上使用[155]。



芫花甲素(**208**)　$R_1=PhCO, R_2=CH_3(CH_2)_4(CH{=}CH)_2, R_3=OH$

芫花乙素(**209**)　$R_1=CH_3CO, R_2=CH_3(CH_2)_4(CH{=}CH)_2, R_3=OH$

resiniferatoxin 的氢谱如图 8-41 所示[138]。

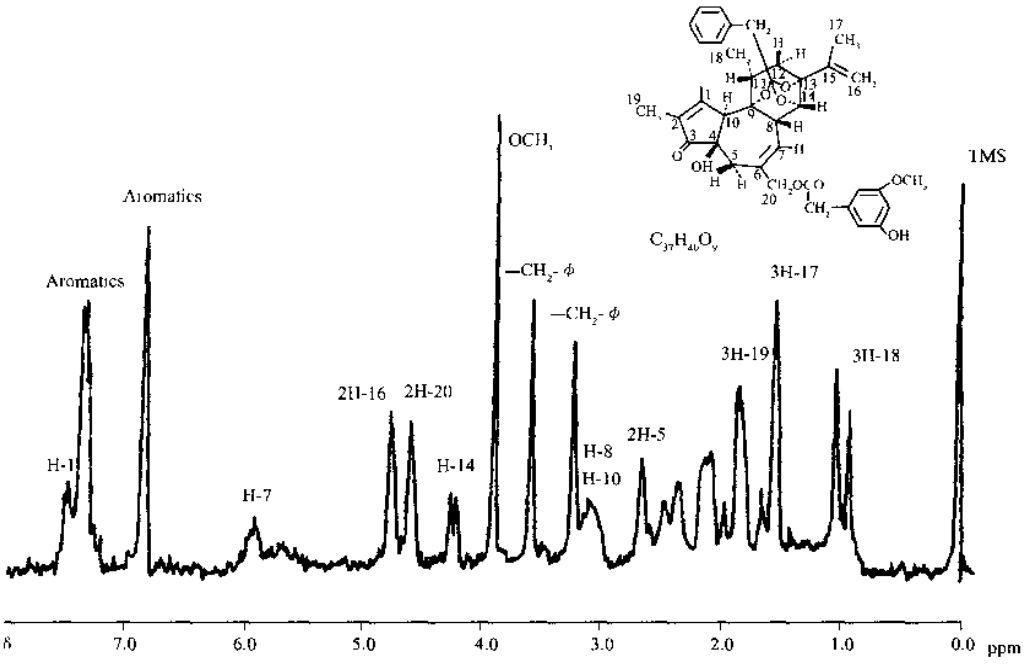
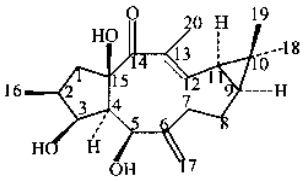


图 8-41　resiniferatoxin 的氢谱图

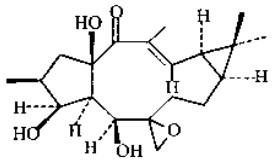
四、续随子烷二萜

续随子烷(lathyrane)二萜为大环二萜,其结构骨架由 5/11/3 三个环稠合而成。A/B 环为反式稠合,4-H 为 α 构型,故称 4α-续随子烷(4α-lathyrane)。B/C 环为顺式。续随子烷二萜可以再分为三类。

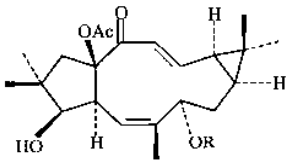
1)续随子二萜醇(lathyrol)[138]。这一类二萜主要从续随子(*E. lathyris*)中分离出来。其结构为 $C_{12,13}$ 有一个双键,C-14 存在一个羰基,形成一个 α,β-不饱和酮。C-6 位存在一个环外双键或存在一个环氧或 $C_{5,6}$ 存在一双键。除从 *E. lathyris* 分离多种续随子二萜外[138],又从泽漆(*E. helioscopia*)分离得到 euphohelioscopin A(**210**)[156]和 B(**211**)及 euphohelionone[157]。

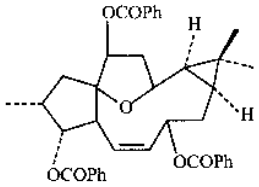


lathyrol



6,17-epoxy lathyrol



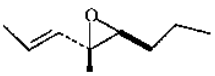


eupholelionone

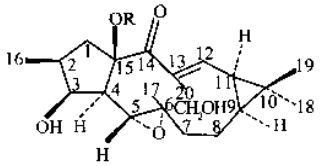
210 R = OC



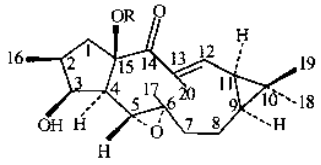
211 R = OC



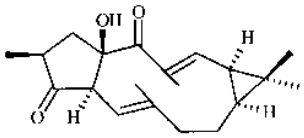
2) Jolkinol 二萜。这类二萜主要是在 $C_{5,6}$存在一个环氧或一个双键。jolkinol A~D 都分离自 *E. jolkini*[138]。



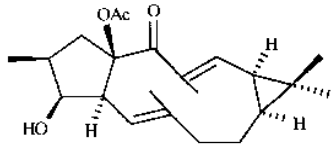
jolkinol A(R=cinnamate)



jolkinol B(R=cinnamate)

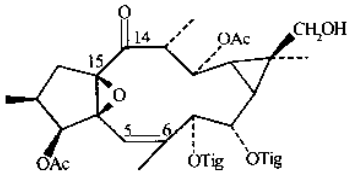


jolkinol C

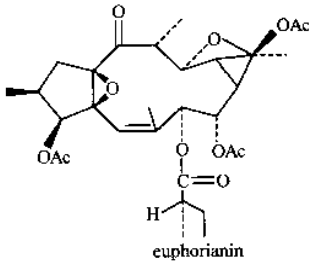


jolkinol D

3) 在 $C_{4,15}$存在一个环氧，在 $C_{5,6}$存在一个双键的续随子烷二萜。它们是从 *E. ocruensis*、*E. canariensis* 等植物中分离而得，如化合物(**212**)和 euphorianin[158~160]。

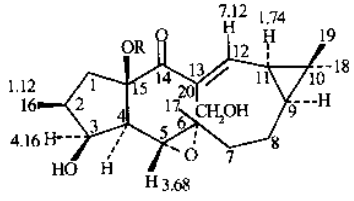


212

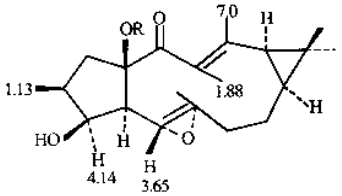


euphorianin

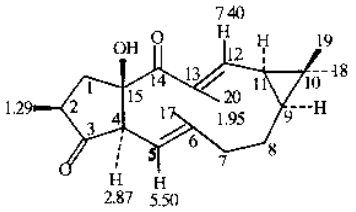
jolkinol 二萜的氢谱数据：



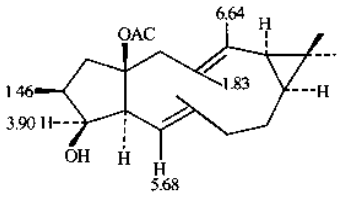
jolkinol A,C_{20}—CH_2OH δ=4.34,4.54. ($CDCl_3$)



jolkinol B ($CDCl_3$)



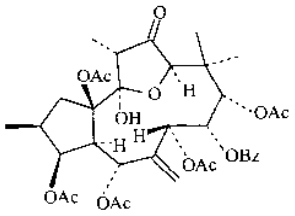
jolkinol C ($CDCl_3$)



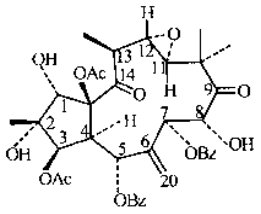
jolkinol D ($CDCl_3$)

五、假白榄烷二萜

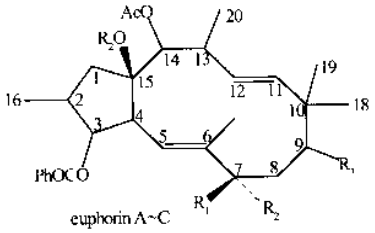
假白榄烷(jatrophane)二萜,结构骨架由两个环稠合而成,即 5/12 两个环。最先从甘遂(*E. kansui*)中分离得到具有镇痛作用的 kansuinin A 和 kansuinin B[167,168]。从泽漆(*E. helioscopia*)的鲜叶和根中分离得到 euphorin A~C、eupholelin A~E 和 euphoscopins A~D,具有抗癌活性[161~163]。kansuinine A 为神经生长因子促进剂[154]。从 *E. terracina* 分离的一种新的假白榄烷二萜 terrchinolide A~G,在 $C_{5,6}$ 出现一个六元环内酯[164,165]。



kansuinun A

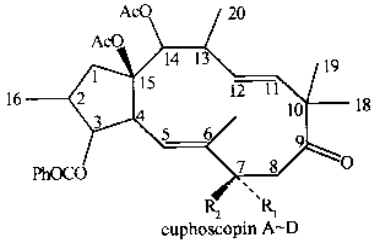


kansuinin B



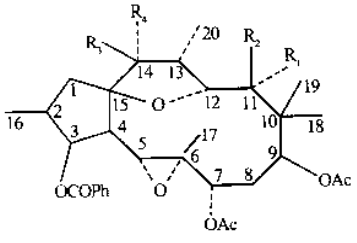
euphorin A~C

A　R=OH,R_2=H,R_1=OAc
B　R_1=OAC,R_2=H,R_1=OH
C　R_1=R_2=O,R_3=OAc



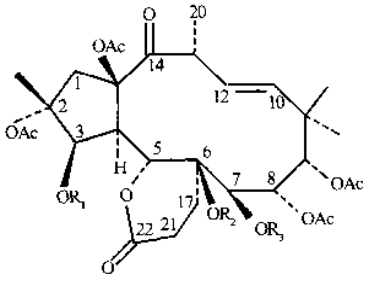
euphoscopin A~D

A　R_1=H,R_2=OH
B　R_1=H,R_2=OAc
C　R_1=H,R_2=OCOPh
D　R_1=R_2=O



eupholelin A~E

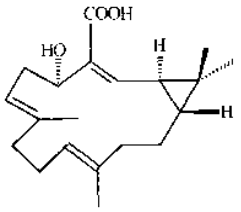
A　R_1=OAc, R_2=R_4=H,R_3=OH
B　R_1=OH, R_2=H,R_3=OH,R_4=H
C　R_1 =OAc, R_2=H,R_3=OCOPh,R_4=H
D　R_1, R_2=O,R_3 R_4=O
E　R_1 – R_2=O,R_3=OH,R_4=H



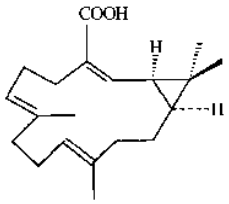
terrachinolide A R_1=Ac,R_2=B_2,R_3=iBu
terrachinolide B R_1=Ac,R_2=Ac,R_3=iBu
terrachinolide C R_1=H,R_2=Ac,R_3=iBu
terrachinolide D R_1=Ac,R_2=B_2,R_3=Ac

六、西松烷二萜

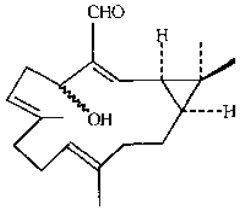
大戟属植物新近发现的西松烷(casbane)二萜,为 14/3 两个环稠合的大环二萜。极为有意义的是西松烷二萜最早发现于软体珊瑚,自然界极少存在。从月腺大戟(*E. ebracteolata*)发现两个西松烷萜,化合物 **213** 和化合物 **214**,其结构经 X 衍射证明。体外实验呈现显著抗菌作用[145]。从湖北大戟(*E. hylonoma*)也分离得到这类二萜 euphorhylonal A(**215**)[166]。



213



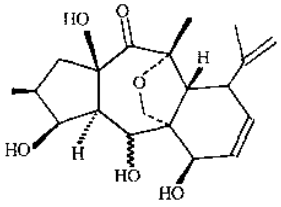
214



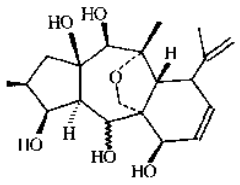
215

七、曼西醇二萜[140,141]

1982 年,从番樱桃大戟(*E. myrsinites*)首次获得 6 个无刺激性曼西醇(myrsinol,**216**)衍生物,并用 X 射线衍射确定了曼西醇的氢化锂还原产物 14β-羟基曼西醇(**217**)的结构。近年,对阿勒颇测大戟(*E. aleppica*)、鸡肠狼毒(*E. prolifera*)和西奎尔氏(*E. seguieriana*)中的活性二萜成分进行研究,发现了具有中等程度抗 HIV-1 逆转酶抑制作用和在体外抑制肿瘤细胞的曼西醇二萜化合物。



曼西醇 (myrsinol,**216**)



14β-羟基曼西醇
(14-hydroxy myrsinol,**217**)

八、研 究 实 例

甘遂(*E. kansui*)含有多种大环二萜,其中假白榄烷型的 kansuinin A(**218**) 为一种神经生长因子促进剂,它的结构测定如下:kansuinin A(**218**),白色结晶,熔点 218~220℃,$[\alpha]_D^{23}$ +28°(*c* 0.25,MeOH),分子式为$C_{37}H_{46}O_{12}$。根据氢谱、碳谱和化学反应,证明甘遂有下面一些基团组成。

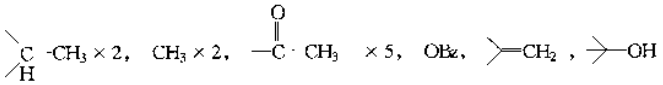
1)甲基。化合物(**218**)有甲基四个,δ 分别为 2.11(d)、1.29(s)、1.14(s)、1.31(d),有五个乙酰基,δ 分别为 1.99、1.95、2.17、2.07 和 2.09,还存在一个苯甲酰基。

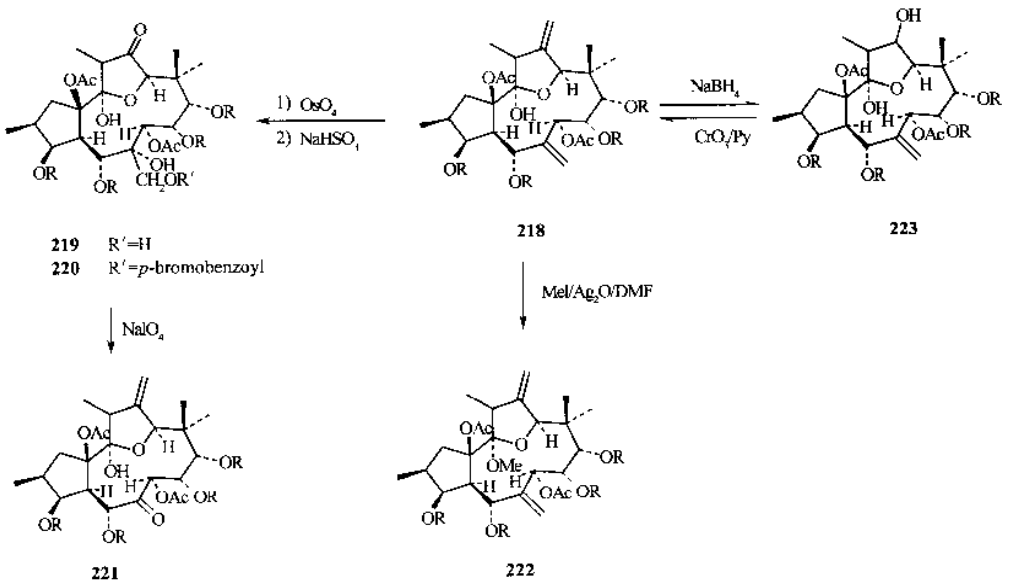
2)环外双键。δ 5.23、5.11(J = 2 Hz)为环外双键亚甲基信号,将化合物 **218** 在吡啶中,同四氧化锇和亚

硫酸钠反应，得产物 **219**，化合物 **219** 出现 AB 四重峰，δ 为 3.40，证明产生一个 CH_2OH。将化合物 **219** 用过碘酸氧化，得化合物 **221**，证明了化合物 **218** 存在一个环外双键。

3）羰基。在碳谱中除了发现有五个乙酰基的羰基的碳谱信号外，在 δ_C 213.9 发现一酮羰基信号。将化合物 **218** 用四氢硼钠还原得化合物 **223**，证明有酮羰基存在。

4）叔醇基。按常规法对化合物 **218** 进行酰化，结果失败，继将化合物 **218** 用氧化银，碘甲烷，在 DMF 作溶剂进行甲醚化，得甲醚化产物 **222**，证明化合物 **222** 存在一个叔醇基。将上述基团表示如下：

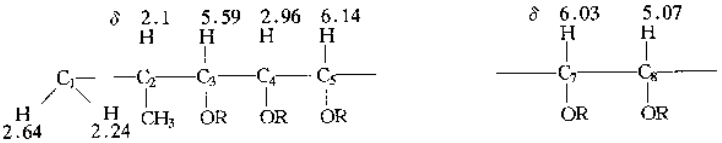




219　R′=H
220　R′=*p*-bromobenzoyl

218　**223**　**221**　**222**

由 ^{1}H-^{1}HCOSY 谱知，化合物 **218** 存在下面的自旋系统：



由 H-1 和 C-2、H-1 和 C-3 存在有远程相关，H-3 和 C-15、H-1 和 C-15 有远程相关，证明了化合物 **218** 存在一个五元环（图 8-42）。

分子式的不饱和度应为 $\Omega=11$，扣除乙酰基、苯酰基，环外双键和一个酮羰基及一个五元环，尚余的不饱和度为 2，这样可以判断化合物 **218** 为三个环组成的分子。

由 HMBC 谱知 C-20 甲基与 13-H 相关，且 13-H 与 C-14、13-H 与 C-15、13-H 与 C-20 都发现有远程相关，说明五元环是通过 C-15 与 C-14 相连（图 8-43）。

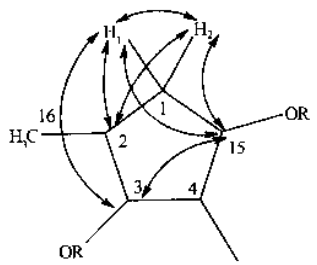


图 8-42

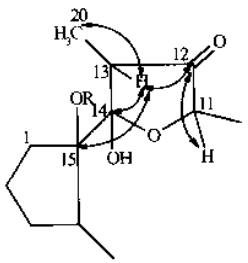


图 8-43

由 HMQC 谱知 C-14 的 δ_C 为 106.3，说明 C-14 与两个氧相连，C-11 的 δ_C 为 77.4 应与一个氧相连，故可知羟基应位 C-14。C-14 与 C-11 由氧相连，构成一个五元环内酯是合理的。这样，就可以推断化合物 **218** 存在一个大环，结构如图 8-44 所示。

由于 11-H 与 C_{18}—CH_3 和 C_{19}—CH_3 有远程偶合，H-9 与 C_{18}—CH_3 和 C_{19}—CH_3，H-9 与 C-8、H-9 与 C-10、H-9 与 C-7 都出现远程相关，4-H 与 5-H 在 COSY 谱中出现偶合。H-5 与 C-6、H-7 与 C-6、C-7 与 17-H 有远程相关，可以判断环外双键应位于 C-6 位。由 HMQC 谱可以归属出 C-3、C-5、C-7、C-8 和 C-9 的化学位移，它们分别为 δ 5.59(d)、6.14(s)、6.43(s)、6.03(s)和 5.07(s)。证明它们都是被含氧基团取代。

由于芳氢碳与 8-H 出现远程偶合，可以判断苯甲酰基位于 C-8 位，而 C-3、C-5、C-7、C-9 的含氧取代都应为乙酰基。余下一个乙酰基则位于 C-15 位，kansuinin A(**218**)的平面结构推断完成(图 8-45)。

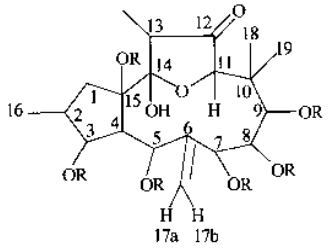
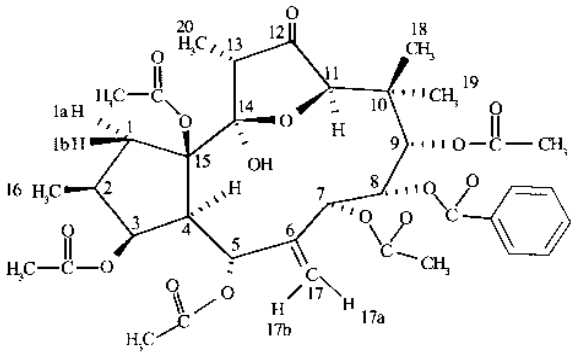


图 8-44



kansuinin A (**218**)

图 8-45

kansuinin A 的构型，可由 NOE 予以确定，详见表 8-22。根据文献，最初确定该结构的为 Hirata 等[167]，但 C-3、C-5、C-7、C-8 和 C-9 的取代基未能确定，实际上就是苯甲酰基的取代位置未能确定。后来 Uemura 等[168]研究认为苯甲酰基位于 C-3 位。但根据 HMBC 的数据看来，kansuinin A 的苯甲酰基，应当位于 C-8 位[169]。

Kansuinin A(**218**)的^{1}H-NMR 和 HMBC 谱和有关数据见图 8-46，图 8-47 和表 8-20。

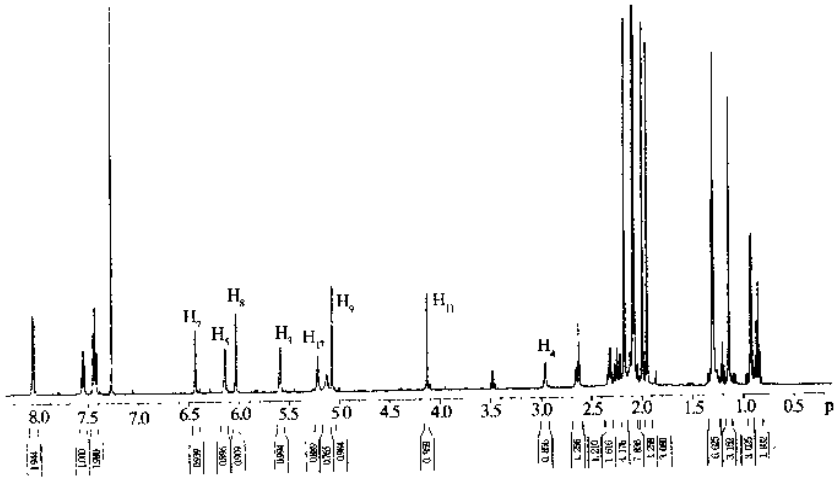


图 8-46 kansuinin A 的^{1}H-NMR 图

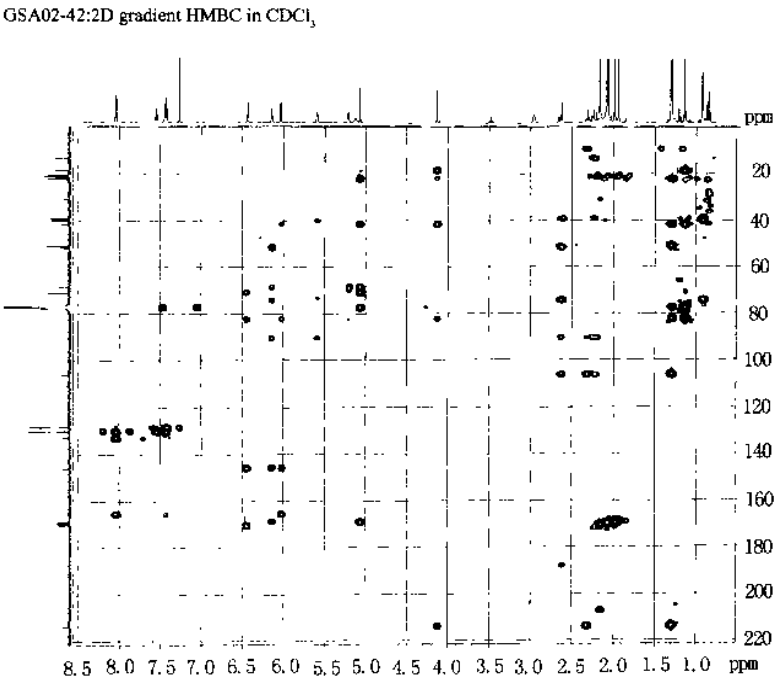


图 8-47　kansuinin A 的 HMBC 图

表 8-20　Kansuinin A 的核磁共振数据[$CDCl_3$, TMS, δ ppm, (J = Hz)]

No.	^1H	^{13}C	^1H-^1HCOSY	HMBC	NOESY
1a	2.64dd(14.0,6.5)	40.0t	H-2,1b	C-2,4,3,15,14	H-16,20,2,1b
1b	2.24d(14.0)		H-1a	C-16,2,15,14	H-16,2
2	2.11m	39.1d	H-16,1a,3	C-1	H-16,1a,4,3
3	5.59d(3.0)	74.4d	H-2,4	C-1,15,5	H-1b,2,4
4	2.96brs	51.8d	H-3,5		H-2,1b,3,5,7
5	6.14brs	69.8d	H-4,17a	C-4,7,3,15,6,5-OAc	H-20,4,17a,8,7,3-OAc
6		146.0s			
7	6.43s	68.5d	H-17a,17b,8	C-8,9,6,7-OAc	H-4,11,8,5
8	6.03s	71.1d	H-7	C-10,9,6,8-OBz	H-18,9,5,7
9	5.07s	82.4d		C-18,19,10,7,8,11,9-OAc	H-18,19,8
10		41.5s			
11	4.13s	77.4d		C-18,19,10,9,12	H-19,7
12		213.3s			
13	2.31m	50.9d	H-20	C-20,15,14,12	H-20
14		106.3s			
15		90.5s			
16	0.92d(6.5)	13.3q	H-2	C-1,3	H-2,1b

续表

No.	^1H	^{13}C	^1H-^1HCOSY	HMBC	NOESY
17a	5.22brs	110.3t	H-17b,5,7	C-7	H-9,5,5-OAc
17b	5.13brs		H-17a,7		H-17a
18	1.29s	18.7q		C-19,10,11,9	H-19,9,8
19	1.14s	22.1q		C-18,10,11,9	H-18,11,9
20	1.31d(7.0)	9.2q	H-13	C-20,13,14,12	H-13,1a
3-OAc		169.1s			
	1.99s	21.9q		3-OAc	
5-OAc		168.7s			
	1.95s	20.8q		5-OAc	
7-OAc		170.4s			
	2.17s	21.0q		7-OAc	
8-OBz		165.3s			
1′		130.3s			
2′,6′	8.04d(7.5)	128.3d	H-3′,5′	C-3′,5′,8-OBz	H-3′,5′
3′,5′	7.48t(7.5)	129.9d	H-2′,6′,4′	C-2′,6′,4′,8-OBz	H-2′,6′
4′	7.54t(7.5)	132.9d	H-3′,5′	C-3′,5′	
9-OAc	2.07s	169.5s			
		20.4q		9-OAc	
15-OAc	2.09s	170.0s			
		21.2q		15-OAc	

参 考 文 献

[1] 山桥博等.天然物化学.江南堂,1985,102
[2] Wani M C et al. J Am Chem Soc,1971,93:2325
[3] Vogeldin F G et al. J Nat Prod,1987,50:9
[4] Huang K et al. J China Pharmaceutical Univ,1998,29:259
[5] Fuji K et al. Tetra Lett,1992,33:7915
[6] 康强胜等.天然产物研究与开发,1993,5:61
[7] 宣红玉等.天然产物研究与开发,1998,10:96
[8] Zhang S et al. J Chem Soc Chem Commun,1994,1561
[9] Oliver Huang C H. J Nat Prod,1986,49:665
[10] Jerry I M. J Nat Prod,1986,49:665
[11] Schiff P B et al. Nature,1997,277:665
[12] 方唯硕.中国药学杂志,1994,29:259
[13] Mellado W et al. Biochem Biophys Res Commun,1984,124:329
[14] Magn N F. J Nat Prod,1985,51:296
[15] Pulicani J P et al. Tetra Lett,1994,35:9717
[16] Neidiph K A et al Ibid,1994,35:6839
[17] Bouchard H et al. Ibid,1994,35:9713
[18] Pulicani J P et al. Ibid,1994,35:4999
[19] Kant J et al. Ibid,1994,35:5543
[20] Kingston DG I et al. J Nat Prod,1990,53:1
[21] Gueritte-voegelein F et al. J Nat Prod,1987,50:9

[22] Mangatal M T et al. Tetrahedron, 1989, 45: 4177
[23] Holton R A et al. J Am Chem Soc, 1994, 116: 1599
[24] Ojima I et al. Tetra Lett, 1993, 34: 4194
[25] Denis J M et al. J Am Chem Soc, 1988, 110: 5917
[26] Ojima I et al. J Org Chem, 1991, 56: 1681
[27] Didier E et al. Tetra Lett, 1994, 35: 2349
[28] Didier E et al. Ibid, 1994, 35: 3063
[29] Bourzat J D et al. Ibid, 1993, 34: 6049
[30] Kingston D G. Ibid, 1994, 35: 4483
[31] Gou DM et al. J Org Chem, 1993, 58: 1287
[32] Bunnage M E. J Chem Soc, Perkin Trans 1, 1994, 2385
[33] Holton R A et al. J Am Chem Soc, 1994, 116: 1597
[34] Holton R A et al. Ibid, 1994, 116: 1597
[35] Nicolaon K C et al. Nature, 1994, 364: 630
[36] Danishefsky S J. J Am Chem, Soc, 1996, 118: 2844
[37] Miller R W et al. J Nat Prod, 1980, 43: 425
[38] 陈未名等. 药学学报. 1997, 32: 365
[39] 周金云等. 植物学报, 1997, 39: 467
[40] 黄开胜等. 中国药科大学学报, 1998, 29: 259
[41] 闵知大等. 药学学报, 1989, 24: 673; 梁敬钰等. 中草药, 1997, 28(增刊): 41
[42] Miller D G et al. J Nat Prod, 1980, 43: 525
[43] 梁敬钰等 化学学报, 1988, 46: 21; Arslanian R L et al. J Nat Prod, 1995, 58: 583
[44] Kupchan S M et al. J Am Chem Soc, 1972, 92: 7194
[45] 李瑞林等. 北京: 中国科技出版社, 1989, 75～113, 264～384
[46] 张亮等. 中国药科大学学报, 1992, 23: 158
[47] 张崇璞等. 药学学报. 1993, 28: 110
[48] 郑家润等. 中国医学科学院学报, 1991, 13: 40
[49] Wang W et al. Drugs of the Futhure, 1999, 24: 991
[50] 崔维利等. 天津药学, 1999, 11: 37
[51] 罗维波等. 中国中医基础医学杂志, 2000, 6: 129
[52] 吕杨等. 天然产物研究与开发, 1998, 10: 1
[53] 马鹏程等. 植物学报. 1993, 35: 637
[54] 于德泉等. 药学学报. 1992, 27: 830
[55] 马朋程等. 中国药科大学学报, 1992, 23: 135
[56] 徐任生. 天然产物化学. 北京: 科学出版社, 1993, 337
[57] 秦国伟. 中药研究与开发. 北京: 科学出版社, 2000, 93～94
[58] Yamamura S et al. Tetra Lett, 1981, 22: 5316
[59] Chem H et al. Indian J Chem, 1996, 35B(12): 1308
[60] C A. 1985, 103: 1199281u
[61] 刘桂芳等. 中药通报, 1983, 13: 35
[62] Kohji et al. Biosci Biotech Biochem, 1994, 58: 1749
[63] Che C T et al. Phytochemistry, 1994, 62: 110
[64] Ahmad S et al. Phytochemistry, 1977, 16: 1844
[65] Hoet E et al. Bull Soc Chim Beig, 1980, 89: f385
[66] Uemura D et al. Tetra Lett, 1974, 819
[67] Uemura D et al. Chem Lett, 1974, 819
[68] Shizuri Y et al. Ibid, 1983, 65
[69] Shizuri Y et al. Ibid, 1983, 65
[70] C A. 1984, 100: 171560V
[71] Satti N K et al. Phytochemistry, 1986, 25: 1411
[72] Satti N K et al. Phytochemistry, 1994, 62: 110
[73] Ding Y L et al. Planta Med, 1991, 57: 569
[74] 王文祥等. 药学学报, 1998, 33: 128

[75] C A. 103:119928u
[76] C A. 111:3962p
[77] Giovanni A et al. J Nat Prod, 1998, 61:749
[78] Alberto M J et al. J Nat Prod, 1996, 62:110
[79] Lal A R et al. Phytochemistry, 1990, 29:2239
[80] Morgenstern T et al. Ibid, 1996, 41:1149
[81] 梁勇等. 中草药, 2000, 31:304
[82] 闵知大等. 内部资料. 1997
[83] Inouge Y et al. Bull Chem Soc Japan, 1996, 42:3316
[84] Fan T P et al. J Asian Nat Prod Research, 2000, 2:237; Chem Pharm Bull, 1993, 41:1415
[85] 杨东等. 中国药科大学学报, 1998, 29:255
[86] Cava M P et al. Chem Ind, 1973, (1):34
[87] 胡昌奇等. 药学学报, 1982, 17:435
[88] Matsuda T. Chem Pharm Bull, 1994, 42:1216
[89] 张树军. 中国药物化学杂志, 1997, 7:270
[90] Jantan I et al. Phytochemistry, 1994, 37:1477
[91] Balmain A et al. J Chem Soc, Perkin Trans 1, 1973, 1247
[92] Nakanish K et al. Tetrahedron, 1965, 21:2619
[93] Cava M P et al. Tetrahedron, 1965, 21:2619
[94] Cava M P et al. Ibid, 1959, 18:397
[95] 马鹏程等. 植物学报. 1995, 37:822
[96] Chandes R et al. International J of Pharmacognosy, 1995, 33:135
[97] Bhat S V et al. Progress in the Chemistry of Organic Natutral Products, springer-Verlag, 1993, 62:1
[98] Bailey W J et al. J Org Chem, 1991, 56:844
[99] Paulus E F. Z Kristallog, 1980, 153:43
[100] Ruzicka L et al. Helv Chim Acta, 1979, 5:107
[101] Wilson S R et al. J Am Chem Soc, 1976, 98:3669
[102] Fugita E et al. J Chem Soc Perkin I, 1974, 1547
[103] Min Z D et al. Chem Pharm Bull, 1989, 37:2502
[104] Min Z D et al. Ibid, 1990, 38:3167
[105] Chen H M et al. Ibid, 1995, 43:2253
[106] Shimomura H et al. Ibid, 1989, 37:996
[107] Lie N et al. Phytochemistry, 1991, 30:1963
[108] Min Z D et al. Phytochemistry, 1991, 30:1963
[109] Sie N et al. Chem Pharm Bull, 1992, 40:2193
[110] Fujita E et al. Heterocycles, 1976, 5:793
[111] Piozz F et al. Ibid, 1981, 15:1489
[112] Gross G A et al. Phytochemistry, 1988, 27:1459
[113] Esquivel B et al. Phytochemistry, 1998, 49:811
[114] Boneva I M et al. Ibid, 1998, 47:303
[115] Uchida I et al. Tetrahedron, 1975, 31:841
[116] Savona G et al. J Chem Soc, Perkin Trans I, 1979, 7:1915
[117] Pascual C et al. Phytochemistry, 1986, 25:171
[118] Chen H M et al. Heterocycles, 1996, 43:611
[119] Chen H M. Chin Chem Lett, 1996, 6:549
[120] 徐建华等. 昆虫学报, 1998, 41:366
[121] Fujita E et al. Progress in the Chemistry of Organic Natural Products, Springer-Veslag, 1984, 46:78
[122] 李继成等. 药学学报, 1982, 9:682
[123] 李继成等. 云南植物研究, 1986, 8:93
[124] 张覃沐等. 科学通报, 1980, 25:1051
[125] 张覃沐. 中国药理通讯 1985, 2:15
[126] 河南省医科所药理药化组等. 中草药通讯, 1977, 31
[127] 郑新荣等. 云南植物研究, 1984, 6(3):485

[128] 郑新荣等. 云南植物研究,1986,8:161
[129] Kubo T et al Chem Lett,1977,1289
[130] Sun H D et al Phytochemistry,1992,31:1418
[131] Fujita E et al J Chem Soc(C),1970,1674
[132] Fujita E et al. J Chem Soc(C),1970,1682
[133] 周维善等. 中国科学, 1991,B(3):284
[134] 袁珂等 中国中药杂志,1997,22:478
[135] 马琴 K等. 国外医学药学分册,1992,19:5
[136] Mizutani K et al. Agric Biol Chem,1989,53:395
[137] 潘国石等. 上海:华东地区第十四次天然药物化学学术研讨会,1998,65
[138] Evans F J et al. Progress in the Chemistry of Organic Natural Products Springer-Verlag,1983,44:1
[139] Hirobo I Bioactive Moleculer ,2,Natrual Occurring Carcihigeus of plant Origin-Toxicogy,Pathology and Biochemistry,Kodansha,1987,181
[140] 帅彦平等. 高等学校化学学报,1997,18:1107
[141] 帅彦平等. 天然产物研究与开发,1999,11:85
[142] 焦莹等. 中草药,1990,21:39
[143] Hecker E. Pure and Appl Chem Pregamon Press,1997,49:1427
[144] CA. 1984,100:175160v;CA. 1984. 100:99943c;CA. 1985,102:218334h;CA. 1985,102:218335j;CA. 1986,104:124617e;CA. 1986,105:1120t
[145] 秦国伟. 中药研究与开发. 北京:科学出版社,2000,93 - 94
[146] Giovanni A et al. J Nat prod,1998,61:749
[147] Ma Q G et al. Phytochemistry,1997,44:663
[148] Alberto M J et al. Ibid,1999,62:1399
[149] Giovanni A et al. J Nat Prod,1999,62:1399
[150] Jia Z G et al. Planta Med,1991,57:569
[151] Shi J G et al. Planta Med,1994,60:588
[152] Shi Y P et al. Chin Chem Lett,1996,7:439
[153] Marston A et al. Planta Med,1983, 47:141
[154] Kohji Y et al Biosci Biotech Biochem,1994,58:1749
[155] 徐任生 . 天然产物化学. 北京:科学出版社出版,1993,305
[156] Shizuri Y et al. Tetra Lett,1983,24:2577
[157] Alberto M J et al. Phytochemistry,1998,49:1095
[158] Morgenstern T et al. Ibid,1996,41:1149
[159] Alberto M J et al. Ibid,1997,45:563
[160] Fakunle C O et al. J Chem Soc,perkin Trans I.1990,3:727
[161] Shizuri Y et al. Ibid,1984,25:5547
[162] Shizuri Y et al. Ibid,1984,25:1155
[163] Yamamura S et al. Ibid,1981,22:5316
[164] Alberto M J et al. J Org Chem,1996,61:1707
[165] Alberto M J et al. Phytochemistry,1997,45:137
[166] Chen H et al. Indian J Chem,1996,35B(12):1308
[167] HirataY. Pure Appl Chem,1975,41:175
[168] Uemura D et al. Tetra Lett,1975,1675:1703
[169] Pan Q et al. Chin Chem Lett,2003,13:1178
[170] Node M et al. Phytochemistry,1981,20:757
[171] Francisco F G et al Ibid,1983,22:723
[172] Chatterjee A et al. Ibid,1978,17:1777
[173] Chatterjee A et al. Tetradron,1977,33:2407
[174] Corey E J et al J Am Chem Soc,1988,110:3672
[175] Walker K et al. Phytochemistry,2001,58:1

（闵知大）

第九章　银杏萜内酯

第一节　引　　言

银杏(*Ginkgo biloba* L.)是侏罗纪(Jurassic eras)和白垩纪(Cretaceous eras)的孑遗植物，属银杏科(Ginkgoaceae)，是基本上保持了2亿年前的生态特征并得以幸存下来的少数植物之一，因而被达尔文称为"活化石"。由于银杏科植物原有的五十多种绝大多数于第三、第四纪冰川期绝灭，使银杏成为该科中惟一的一种，因而成为一科一属一种的植物。

银杏树的生命力特强，一般极少病虫害。其抗细菌、抗真菌、抗病毒和抗虫害的能力极强。此外，银杏被誉为长寿树。按20世纪50年代后期的普查，据不完全统计，中国有千年以上的银银杏树350多棵，近年报道在我国，树龄最高的可能是山东莒县浮来山定林寺的"银杏王"，树龄约为3400岁[1]。

银杏果(白果)在我国古来即作为药用，最早记载于《日用本草》(1276～1368年)，其后多种本草均有叙述，并列入《中华人民共和国药典》[2]。其主要作用为温肺益气，定喘嗽，利小便，止白浊，降痰消浊，杀虫和解酒。性味属甘、苦、涩、平、有毒。银杏叶的开发始于20世纪60年代末期，德国学者首先报道其提取物具有防治心脑血管系统及外周血管循环障碍疾病的作用，经大量化学、药理和临床研究成功的开发成为新药[3]。80年代发现其中银杏内酯为血小板活化因子(platelet activating factor, PAF)拮抗剂，白果内酯具有多种神经系统方面的活性。80年代后期，银杏叶提取物进入防治老年痴呆的临床试验，使银杏叶制剂的临床适应证不断扩大[4]。90年代末，其国际销售额已跃居植物药的第一位，年销售额约为20亿美元。同时，对银杏内酯、白果内酯的化学、药理、临床的基础和应用研究也逐步深入[5]。

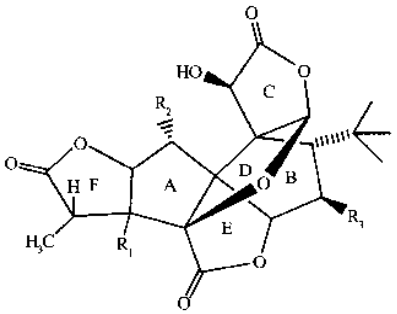
第二节　银杏萜内酯的化学结构与提取分离

一、化学结构[6]

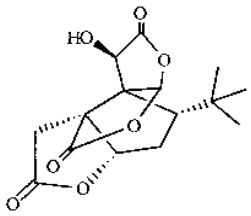
银杏的苦味成分，最早于1932年由Furukawa报道分离得到，他们得到的实际为银杏内酯混合物。其后Sawada、Fujise等成功地分离得到了多种结晶性苦味质。1967年，Nakanish和Okaba两个实验室分别独立报道通过化学工作及当时的波谱解析技术初步推定了它的结构，并经X射线衍射证实。白果内酯的结构也于1971年由Nakanish及Weinges两个研究小组分别推定。再经X射线衍射单晶分析技术和500 MHz核磁共振及二维谱技术进一步确认。1988年，Corey研究小组完成了银杏内酯B的全合成工作。

目前，从银杏的叶、根、根皮中共分得萜内酯6个，银杏内酯(ginkgolide A, **1**、B, **2**、C, **3**、J, **4**、M, **5**)和白果内酯(bilobalide, **6**)，以下简称为GA、GB、GC、GJ、GM和BB。银杏内酯的结构是由20个碳原子组成，因此一般将其列为二萜。它的结构是由6个五元环A～F形成的刚性骨架，其中包括一个螺环-[4,4]-壬烷(spiro-[4,4]-nonane)，一个四氢呋喃环D，三个五元内酯环C、E、F。顺式的F、A、D和C环形成一个半球状笼式空洞，F环和C环为空洞的两平行边，四氢呋喃环D居于笼式的中心，螺环A、D处于空洞的顶部；环上的醚氧原子，F和C环上的酯氧原子，C-10羟基氧原子构成一个多齿系统，与冠醚有些相似。半球形笼式的空洞部分，宽为4Å，深为5Å，足够容纳Na^+、K^+、Ca^{2+}等离子或有机小分子。半球状分子上的羰基、羟基又可和外部分子形成氢键，结合突出于骨架之外的叔丁基又增加了分子的亲脂性，因此从分子生物学角度，可和多种受体结合，形成独特的生理作用。

白果内酯(**6**)是由15个碳原子组成，一般被列为倍半萜，实际为银杏内酯类的环氧化开裂降解产物。银杏内酯的结构如图9-1所示。



银杏内酯		R_1	R_2	R_3
	A (1)	OH	H	H
	B (2)	OH	OH	H
	C (3)	OH	OH	OH
	J (4)	OH	H	OH
	M (5)	H	OH	OH



白果内酯 (6)

图 9-1　银杏内酯的结构

二、提取和分离[5]

银杏内酯的提取和分离方法早期较少有详细报道。1967 年，Nakanish 等报道从银杏根皮中分离银杏内酯。银杏在日本当时是稀有树种，生长期又慢，一般不可能砍树并用其根皮进行提取分离研究。由于台风损坏了日本仙台地区多棵银杏古树，收集其五棵古树的根皮得 100 kg，将此未经干燥的根皮切细以甲醇提取，甲醇浓缩物以苯洗脱脂，水层析出固体，此固体于乙醇中结晶得混合内酯粗品。此混合结晶以硅胶柱层析，以氯仿含少量甲醇柱层析收得银杏内酯 A 和 B 的混合物，小量的银杏内酯 M，最后得银杏内酯 C。银杏内酯 A 和 B 的混合物经 10～15 次分步复结晶收得纯品银杏内酯 A 和 B。银杏内酯各成分的得率分别为：GA 0.25%、GB 0.25%、GC0.50%、GM 0.005%。

1967 年 11 月，Okabe 将采收的绿叶以沸水提取，经活性炭吸附，用丙酮解吸。丙酮洗脱液浓缩，于乙醇中析出混合内酯，粗内酯经硅胶层析得 GA 0.013%、GB 0.17%、GC 0.025%。

1971 年，Weinges 将银杏叶以乙醇和水提取，浓缩液以氯仿脱脂，乙酸乙酯提取，再经柱层析纯化制得。

1972 年，Weinges 将银杏根用甲醇提取，浓缩液以苯脱脂，再经层析制得。

20 世纪 90 年代以来，由于银杏提取物 GBE 作为保健品已大量上市。目前 GBE 的生产工艺，主要有溶剂提取工艺，即 Schwabe 专利和 Indena 专利和具有中国特色的树脂工艺[6]。

1. GBE 的生产工艺[7]

1) Schwabe 专利：商品名 EGB 761。

2) 1972 DE 2117429 此工艺提取溶剂可为 60%丙酮，70%甲醇，50%乙醇或 50%丙醇。

3) 1991 DE 3940091 C2，DE 3940092 C2，DE 3940095 A1。

4) Indena 专利：商品名 LI 1370。

5) 树脂工艺(中国工艺)。

2. 银杏萜内酯的分离纯化：硅胶柱层析分离法

取银杏提取物 GBE(内酯含量 6%以上)，硅胶以石油醚装柱，硅胶柱 4.5 cm×30 cm，石油醚-乙酸乙酯梯度洗脱，每流分 400 mL。石油醚洗脱流分 1～8，石油醚-乙酸乙酯 10∶2 洗脱，流分 9～14，石油醚-乙酸乙酯 10∶4 洗脱，流分 15～16 均无物质析出。

流分	溶剂	析出结晶
17～18	石油醚:乙酸乙酯 10:4	125 mg,以 bilobalide 为主
19～20	石油醚:乙酸乙酯 10:4	115 mg,以 ginkgolide A 为主
21	石油醚:乙酸乙酯 10:5	105 mg,ginkgolide A 和 B 混合晶,其中 B 较多
22～23	石油醚:乙酸乙酯 10:5	20 mg,ginkgolide B 为主
26～27	石油醚:乙酸乙酯 10:5	80 mg,ginkgolide C 为主,含 A 和 B 各少许
28～29	石油醚:乙酸乙酯 10:5	30 mg,ginkgolide C 和 J 的混合物

经硅胶层析制得的银杏内酯 A、B、C 和白果内酯可溶于乙醇,加入适量的热水,放冷析出,经二三次复结晶可得 98%以上的纯品。

由于银杏内酯和白果内酯于银杏中的含量及 GA、GB、GC 与 BB 间相互的比例,往往随产地和采集季节的不同而差别较大。通常叶中的银杏内酯的含量从 5 月份开始含量逐渐增高,8 月、9 月份达到最高,以后又逐步下降,初冬降至最低。叶中 GBE 得率为 1.5%～3%,其中总内酯含量为 6%～9%,最高的可达 13%,即银杏叶中总内酯的含量为 0.1%～0.3%。银杏根皮中萜内酯总含量较叶为高,根皮中含银杏内酯 M,而叶中不含。

银杏萜内酯的分离主要为硅胶柱层析。移动相溶剂常用 $CHCl_3$-MeOH、$CHCl_3$-Me_2CO 和 PtE-EtOAc。洗脱顺序为:BB,GA,GB,GJ,GC。GA 和 GB、GC 和 GJ 非常靠近,较难分开。用 PtE-EtOAc 洗脱时洗脱顺序为:BB,GA,GB,GC,GJ。另有报道采用 Sephadex LH-20 作为填充料分离,以 $CHCl_3$-Me_2CO 为洗脱剂,分离效果比硅胶好,洗脱顺序也为:BB,GA,GB,GJ,GC,与羟基的数目和取代位置相关。其分离机制被认为是葡聚糖羟基与内酯羰基形成分子间氢键的强度不同。

银杏内酯味极苦,均为白色结晶。一般能溶于甲醇、乙醇和丙酮,也能溶于乙酸乙酯,略溶于水,不溶于苯、氯仿和石油醚。白果内酯因分子较小,所以在水中溶解度比银杏内酯类大。

银杏内酯对浓 HCl、浓 H_2SO_4、浓 HNO_3 都很稳定,溶于强碱溶液中,则内酯环被打开,再酸化则环合复原(银杏内酯分子中虽有 3 个内酯环,此外还有 2～4 个羟基,由于分子中固定的立体距离,酸化再环合过程中羧基不会和较远的羟基环合,因此基本上复原)。白果内酯化学性质极不稳定,酸中较不稳定,于碱则溶解并分解,再酸化完全不能回收白果内酯(表 9-1)。

表 9-1 银杏萜内酯类的物理数据

化合物	分子式	相对分子质量	熔点/℃	旋光度 $[\alpha]_D^{20}$
银杏内酯 A	$C_{20}H_{24}O_9$	408	310 分解	-59.4(c1, EtOH)
银杏内酯 B	$C_{20}H_{24}O_{10}$	424	300 分解	-52.9(c1,EtOH)
银杏内酯 C	$C_{20}H_{24}O_{11}$	440	300 分解	-13.4(c1,EtOH)
银杏内酯 J	$C_{20}H_{24}O_{10}$	424	300 分解	-39 (dioxane)
银杏内酯 M	$C_{20}H_{24}O_9$	424	322 分解	-11.8(c1,EtOH)
白果内酯	$C_{15}H_{18}O_8$	326	300	

第三节 GBE 中银杏内酯的定性和定量分析[7]

银杏内酯 A、B、C、J、M 和白果内酯,化学性质相近,更由于 C-1、C-10 羟基形成很强的分子内氢键,导致在正相层析中较难分开。该类化合物除羰基外没有其他发色团,紫外高波长处无吸收,本身没有荧光,也缺乏双键和其他易于检测的官能团。用浓硫酸等非选择性显色剂,不仅缺乏选择性,灵敏度和分辨率也低。这是银杏萜内酯类在植物中的含量的测定、纯度判断存在的主要困难,也是 30 多年进展缓慢的重要原因。近年由于 GBE 临床应用的逐年扩大,银杏萜内酯类重要生理作用的发现而加速了其定性和定量分析方法上的发展。

一、薄层层析

薄层层析常用硅胶板或荧光硅胶板。文献中有许多报道如 Wagner 等以甲苯:丙酮展开,茴香醛-硫酸显色或用羟基胺-$FeCl_3$。1991 年,Tallevi 和 Kurz 以乙酸乙酯:甲苯:丙酮:己烷(40:30:20:10)展开,加热到 150 ℃ 保持35～60min,于 365 nm 观察荧光。1993 年,Van Beek 和 Lelyveld 以己烷:乙酸乙酯展开,薄层喷洒 Ac_2O,140 ℃ 加热 25min,紫外 365 nm 观察荧光,但都不十分理想,特别是在粗提取物,化学成分十分复杂的情况下,更是难于辨认。我们实验室摸索完成的未发表工作,采用铝基硅胶薄层板(E. Merck 生产),以己烷:乙酸乙酯(50:50)展开,薄层待溶剂挥发后,于煤气灯上小火烤烧其铝基的一面,银杏萜内酯即率先碳化呈现灰棕色斑点(火焰太大或长时间烧烤,则底板也呈深色)。白果内酯 R_f 0.60,银杏内酯 A R_f 0.60,银杏内酯 B R_f 0.44,银杏内酯 C R_f 0.23,银杏内酯 J R_f 0.60。另外,也可用苯:乙酸乙酯(70:30)为展开溶剂,效果也很好,而 R_f 次序为:白果内酯,银杏内酯 A、B、J、C。

上述方法分离及检出效果均佳,并可用于半定量分析。方法为:分别以不同浓度的白果内酯和银杏内酯 A、B、C、J 和测试样品点样于同一块层析板上,同法展开与显色,按测试样品中白果内酯和银杏内酯 A、B、C、J 与对照点样组比较斑点的大小和颜色深度,以估计样品中个别的大概含量。

二、萜类内酯的含量测定

20 世纪 90 年代中期,我国在研究开发国产银杏制剂方面形成热潮。

由于国外报道的 RP-HPLC(视差折光)含量测定方法均不够理想[8],中国科学院上海药物研究所陈仲良研究组研究成功更简单的前处理净化手续,制得紫外检测 98% 以上纯度的银杏内酯 A、B、C 和白果内酯(HPLC-RI 检测,纯度接近 100%)作为对照样品。成功的测定 GBE 中银杏内酯各个的含量。

样品的制备:精密称取银杏提取物 250.0 mg 于 5 mL 三角瓶中,用 2 mL 50% 乙醇(光学纯)溶解于 20 mL 塑料离心管中并加入 5% 氯化钠 5 mL。用水饱和的乙酸乙酯萃取,第一次用 5.5 mL,以后每次 5 mL,共 4 次。加入乙酸乙酯后每次都塞上盖用台式漩涡混合器混合 20s,然后在台式离心机中以 2000r/s 离心 20s。取出离心管用 5 mL,合并于 50 mL 圆底瓶中抽干。残留物用乙醇(光学纯)溶解在 5 mL 容量瓶中稀释到刻度备用。

标准样品配制:精密称取 98% 以上纯度的白果内酯(bilobalide)和银杏内酯 A、B(ginkgolide A、B)各 10 mg,银杏内酯 C(ginkgolide C)7 mg,用甲醇(光学纯)溶解于 5 mL 容量瓶中稀释到刻度备用。

测定条件:带有视差检测器的(RI)HPLC。

分离柱:5$\mu$$C_{18}$15 cm 长,内径 4.6 mm(Waters Symmetry C_{18} 4.6mm×150 mm;Kromasil KR100-5$\mu$$C_{18}$ 4.6mm×150 mm;Alltima 5$\mu$$C_{18}$4.6mm×250 mm 等)。

淋洗剂:26%～29% 甲醇(0.2% 柠檬酸)。

淋洗流速:1.0 mL/min。

进样量:5～10μL。

运行时间:60 min 左右。

结果计算:

总银杏内酯含量(%)= $\sum$(银杏内酯 A、B、C 含量+白果内酯含量)

$$\text{内酯含量}(\%)=\frac{(\text{样品面积}/\text{标准品面积})\times\text{样品浓度}\times\text{样品体积}}{\text{样品质量}}\times 100\%$$

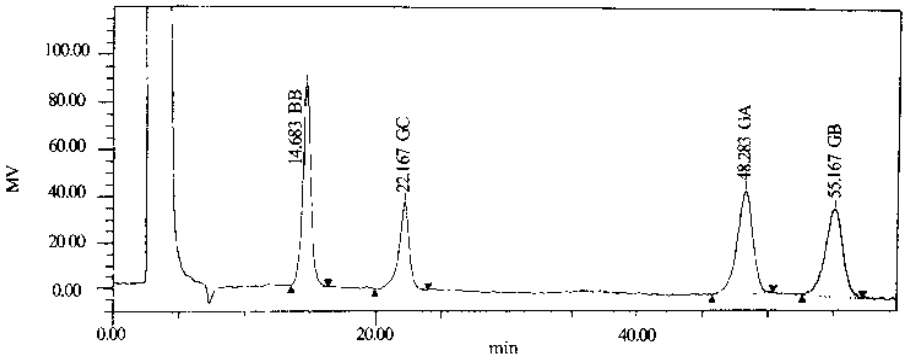


图 9-2 银杏内酯 A、B、C 和白果内酯纯化合物的高效液相分析图

Peak Results

#	name	ret time /min	area /(μV·s)	height /μV	%area	% Ht	start time /min	end time /min
1	BB	14.683	796 490	18681	27.79	41.67	13.533	16.333
2	GC	22.167	458 465	8216	16.00	18.32	19.883	23.967
3	GA	48.283	817 770	9642	28.54	21.51	45.717	50.383
4	GB	55.167	792 890	8297	27.67	18.51	52.633	57.300

BILOBALIDE = 2.01 mg/mL
GINKGOLIDE-A = 1.98 mg/mL
GINKGOLIDE-B = 1.98 mg/mL
GINKGOLIDE-C = 1.20 mg/mL

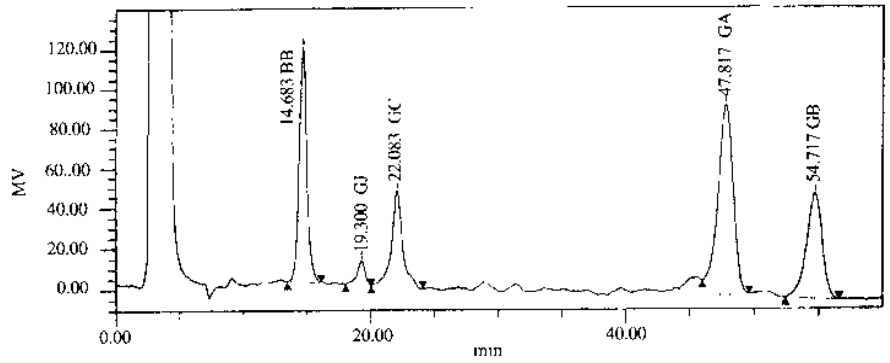


图 9-3 银杏萜内酯类在银杏提取物中含量的高效液相分析图

Peak Results

#	name	area /(μV·s)	height /μV	%area	% Ht	start time /min	end time /min
1	BB	1 046 526	25 187	23.72	36.42	13.417	16.083
2	GJ	128 976	2656	2.92	3.84	18.017	20.050
3	GC	631 320	10 191	14.31	14.74	20.050	24.083
4	GA	1 681 362	20 183	38.11	29.19	46.000	49.650
5	GB	923 504	10 936	20.93	15.81	52.417	56.583

BILOBALIDE = 1.901%
GINKGOLIDE - A = 2.931%
GINKGOLIDE - B = 1.660%
GINKGOLIDE - C = 1.189%
TOTAL - 7.681%

1．TSP，LC-MS 测定法[9]

近年来，热喷雾(themospray interface)液-质联用技术被广泛应用于不挥发极性天然产物的分析。它的应用范围几乎包括了除高分子以外的全部天然产物领域，同样也可用于 GBE 中银杏内酯的分析，HPLC 柱用 RP-18 Nucleosil，以甲醇∶水[(25∶75)～(50∶50)]梯度洗脱，柱后加 0.5mol/L 乙酸铵以形成准分子离子峰 quasi molecular ion($M+NH_4^+$)。本法测定线性关系及重现性均较佳，但灵敏度低，一般只能作为半定量。

2．核磁共振法

Van Beek 等报道了不用层析方法测定银杏萜内酯含量的 NMR 方法[9]。鉴于银杏萜类内酯类结构上均有 H-12，其共振信号一般在 δ 6.00～6.55 之间，在此区内其他杂质的干扰较少，而银杏内酯 A、B、C、J 和白果内酯五者的 H-12 的质子化学位移在适当溶剂中又有差别，因此可直接从积分值计算五者的各别含量。方法为银杏叶粉或 GBE 按方法(1)的提取及净化，以丙酮-d_6∶吡啶-d_4∶甲醇-d_4(18∶6∶1)作溶剂，五者的 H-12 信号均不同，即使在 200 MHz 仪器上也能分开。以顺丁烯酸作标准计算含量，本法灵敏度大体与 HPLC-RI 检测相似。

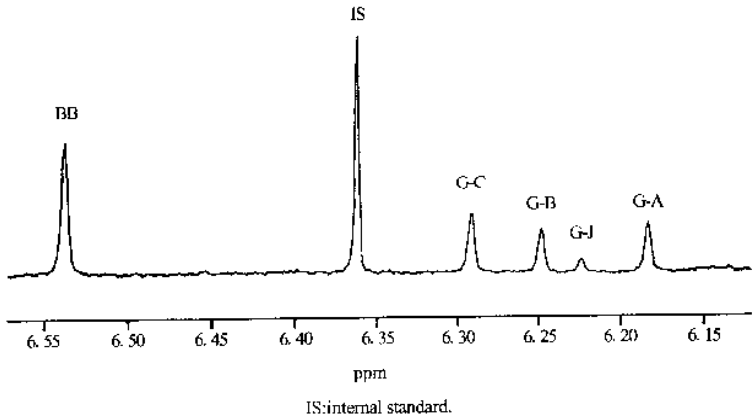


图 9-4　银杏叶中银杏萜内酯 H-12 信号的核磁共振含量分析图

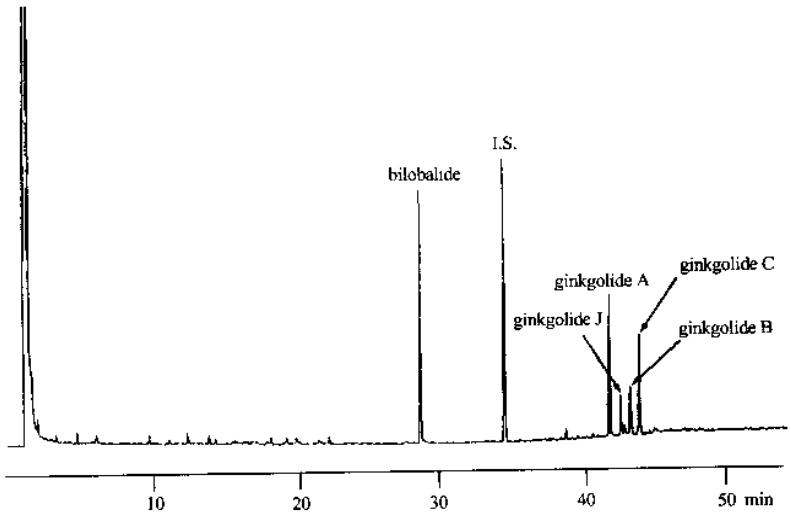


图 9-5　银杏萜内酯类硅化物的气相层析含量分析图

3. 气相层析法

气相层析法是将银杏萜内酯制成三甲基硅衍生物。其前处理净化技术要求就比 RP-HPLC、IR 检测简单：将 GBE 以甲醇溶解，甲醇溶液经 Si SPE 柱，真空条件下于 60℃ 干燥 4h 以甲苯：丙酮(70:30)洗脱。此纯化的提取物加 IS(squalane)浓缩，加 Py + BSTFA 加热，得硅化银杏萜内酯，再做气相层析。以 20 m apolar，0.32 mm id 柱，120～130℃，40℃/min 火焰离子化检测器 (flame ionization detector, FID)检测。其后，van Beek 等用气相层析法结合电子俘获检测器 (electron capture detector, ECD)来测定银杏萜内酯的含量。主要方法为将银杏萜内酯类以氟丁酸酐 (heptafluorobutyric anhydride)酰化，经气相层析分离再以高灵敏度的 ECD 检测，因此最小可检测量为 1 pg，而且此法即使 GBE 不经前处理银杏萜内酯峰也可清晰的检测出[10]。

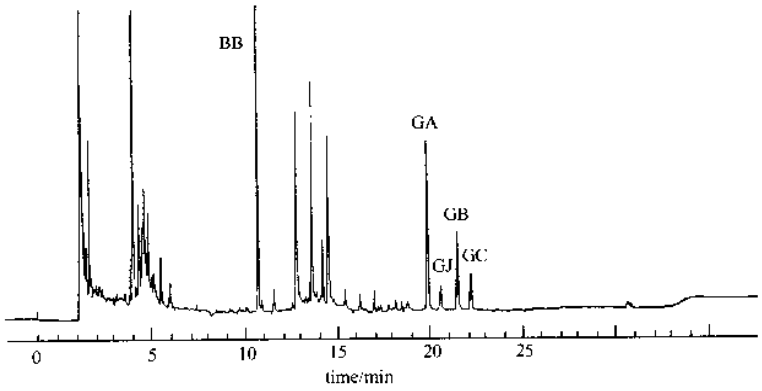


图 9-6 银杏萜内酯类硅化物的 GC-ECD 分析图

4. 生物测定法

鉴于 GBE 生理作用的多样性和化学成分的复杂性，加上其有效成分一时难于搞清楚的现实，仪器分析和化学方法难以完全说明其质量，因此各国学者设想用生物测定来直接反映其质量，而各种生物测试模型中以体外测定抑制由于 PAF 引起的血小板凝聚较为简单易行[10]。由于银杏内酯 A、B、C、J 四者生物作用强度相差较大，它们的 IC_{50}依次为：7.4×10^{-7} mol/L，2.5×10^{-7}mol/L，7.1×10^{-6}mol/L，5.4×10^{-5}mol/L。因此，采用银杏内酯 B 为标准，测定样品的银杏内酯 B 的等作用含量。实验结果表明，莽草酸、6-羟基犬尿喹啉酸、白果内酯、黄酮、除去萜类内酯后的 GBE、银杏酸、银杏双黄酮等的 IC_{50}远远大于银杏内酯 B。说明 GBE 中 PAF 拮抗成分主要为银杏内酯类。本方法只能反映 PAF 拮抗作用的银杏内酯 B 的对比强度，不能得知它们的个别含量，对 GBE 的质量只能作为一种补充。

近年来，Campomovo 等采用结合 HPLC 和蒸发光散射检测器(evaporative light scattering detector, ELSD)来测定银杏内酯含量，取得良好结果。虽然此检测器选择性和折光散射检测器类似，但是若经简单前处理手续还是可以去除大部分杂质的干扰，有可能用来代替 HPLC-RI 法。另外，由于超临界技术的发展，超临界液体萃取(supercritical fluid extraction, SFE)也可用于定量分析前的净化。在 45℃ 和 335 个大气压下，含 10%甲醇的液态 CO_2 可提取各种银杏萜内酯，可以不经净化直接进入 HPLC 和 GC 分析。另外，近年也试用起超临界层析(supercritical fluid chromatography, SFC)。SFC 柱用 aminopropyl 柱，15 cm × 2.0mm，5μm；展开用含 12%甲醇的液态 CO_2，3.5mL/min，780 个大气压，40℃。据称选择性比 RP-HPLC 为好。

综观上述，各种分离分析方法，虽然各有特色，但有广泛推广价值的方法要求应该是净化方法简单、时间短、银杏内酯不丢失，仪器药品设备简单易得、方法精确、灵敏度高、选择性好。上述方法中有些仅适合于研究单位实验室使用，目前能广泛应用的还主要是 RP-HPLC、RI 或 ELSD 检测器检测。

第四节 银杏萜内酯类的波谱分析

银杏萜内酯类结构中除具有 3 个五元环内酯外无其他发色团，因此它们的紫外光谱仅于低波长 200～

220nm 处有吸收，以后吸收强度逐渐减弱，至 250nm 左右基本接近基线。波长再增高，于 250nm 以上也不再有吸收。银杏内酯 A、B、C 的电子轰击质谱 EIMS 分子离子峰银杏内酯 A(408)、B(425)、C(440)，相对丰度一般仅为 5%，而其碎片峰大体均有 M-14 和 M-175，其他无明显规律。采用 FABMS 可得较强的 M+1 分子离子峰银杏内酯 A(409)、B(425)、C(441)。白果内酯 EIMS 得不到分子离子峰，而得到 270(M-56)和 196(M-130)的碎片峰，而 FABMS 可得较强的 327(M+1)分子离子峰。总的来说，银杏萜内酯的质谱碎片化规律尚不清楚，有待进一步研究。红外光谱以 KBr 压片，IR 谱中有明显的 3400～3600 cm^{-1}的羟基吸收，1780 cm^{-1}左右的 γ-内酯吸收及 1130～1180 cm^{-1}的 C—O—C 醚键吸收，1040～1080 cm^{-1}的羟基。

核磁共振谱包括^{1}H-NMR、^{13}C-NMR、二维谱等对银杏内酯结构具有较重要的规律性。由于银杏萜内酯类分子中官能团较多，而分子中质子数相对不是很多，由于各个质子受官能团的影响，化学位移向低场移动的大小不同，因此使各自质子的共振信号分离较好。由于各峰型比较典型，立体化学的规律也比较明确，阐明其各个质子的归属即使不用特殊的 NMR 技术，也不难解决。银杏内酯 A、B、C、J，它们的结构差异仅在于羟基个数及位置不同，对解析结构也很具规律性。

400 MHz 核磁共振仪器测定的^{1}H-NMR 及归属如表 9-2 所示。

表 9-2　银杏内酯类的^{1}H-NMR 谱(400 MHz, DMSO-d_6, J = Hz)

	ginkgolide A	ginkgolide B	ginkgolide C	ginkgolide J
H-1α	1.81 dd(15,8.4)			1.75 dd(15,8.3)
H-1β	2.75 dd(15,7.4)	4.04 dd(7.3,4.1)	3.97 dd(7.3,4.2)	2.71 dd(15,7.7)
H-2	4.84 dd(8.4,7.4)	4.63 d(7.3)	4.62 d(7.4)	4.83 dd(7.7,8.3)
H-6	4.93 d(4.4)	5.30 d(4.2)	4.96 d(4.4)	4.64 dd(4.1)
H-7α	2.05 dd(8.7,4.4)	1.93 ddd(14,14,4.2)	4.04 ddd(14.4,6.0,4.4)	4.15 dd(13.4,4.2)
H-7β	2.05 dd(8.7,4.4)	2.14 dd(14,4.5)		
H-8	1.71 dd(8.7,8.7)	1.72 dd(14,4.5)	1.54 d(14.4)	1.53 d(13.2)
H-10α	4.93 d(5.2)	5.02 d(4.8)	4.99 d(4.8)	4.92 d(4.7)
H-12	6.02 s	6.07 s	6.10 s	6.04 s
H-14	2.94 q(7.1)	2.84 q(7.2)	2.81 q(7.1)	2.89 q(7.2)
t-Bu	1.02 s	1.03 s	1.09 s	1.08 s
H-16	1.12 d(7.1)	1.11 d(7.2)	1.10 d(7.1)	1.10 d(7.2)
OH-3	6.38 s	6.47 s	6.48 s	6.40 s
OH-10	6.81 d(5.2)	7.48 d(4.8)	7.54 d(4.8)	6.91 d(4.8)
OH-1		4.94 d(4.1)	4.97 d(4.2)	
OH-7			5.66 d(6.2)	6.09 d(6.1)

表 9-2 中各组质子的化学位移及裂分常数所反映的立体化学问题也均与银杏内酯 A、B、C、J 的结构完全相符。

银杏内酯类由于氯仿、苯、甲醇中溶解度不是太大，因此一般做核磁共振谱不论是氢谱，碳谱或各种二维谱技术均采用 DMSO-d_6 作为测定溶剂。

一、银杏萜内酯类的^{1}H-NMR 谱

银杏内酯 B 为银杏内酯中抗血小板活化因子 PAF 最强的一个，因此国外对其化学及药理工作做得比其他几个银杏内酯要多。

银杏内酯 B 的^{1}H-NMR 谱，低场部分有三个可为重水交换的质子信号，各为 OH-10 7.48 d(J = 4.8 Hz)，OH-3 6.47 s，OH-1 4.94 d(J = 4.1 Hz)。由于 12 位置缩醛结构，连接于两个氧原子上，因此 H-12 处于最低场化学位移为 6.07 s，其次为 γ-内酯环上的质子 H-6 5.30 d(J = 4.2Hz)、H-2 4.63 d(J = 7.3 Hz)和羟基旁的质子 H-10α 5.02 d(J = 4.8 Hz)和 H-1β 4.04 dd(J = 7.3,4.1 Hz)。再往高场为 H-14 2.84 q(J = 7.2 Hz)、H-7β 2.14 dd(J = 14,4.5 Hz)、H-7α 1.93 ddd(J = 14,14,4.2 Hz)和 H-8 1.72 dd(J = 14,4.5 Hz)。高

场区的甲基质子为 H-16 1.11 d(J=7.2 Hz)和 H-18,H-19,H-20,1.03 s共为 9 个质子。这些质子的按化学环境推测的化学位移和与临近质子的偶合关系也均与银杏内酯实测的^{1}H-NMR 谱一致。

银杏内酯 A 的^{1}H-NMR 谱具有两个羟基质子峰 6.38 s 和 6.81d(J=5.2 Hz)。前者为叔羟基即 3 位 OH,后者为仲羟基即 10 位 OH。其次,分子中处于最低场的质子位 H-12,化学位移 6.02 s,其次是 γ-内酯环上质子 H-6 4.93 d(J=4.4 Hz),H-2 4.84 dd(J=8.4,7.4 Hz)和 H-10 4.93 d(J=5.2 Hz)。向高场依次为 H-4 2.94 q(J=7.1 Hz),和 H-1β 2.75 dd(J=15,7.4 Hz)。由于 H-1β 质子与 10 位 OH 空间距离较近,受 10 位 OH 的屏蔽,因此 H-1β 和 10 位 OH 的信号均向低场转移。再其次为 H-7 的两个质子 2.05 dd(J=8.7,4.4 Hz),H-1α 1.81 dd(J=15,8.4 Hz)和 H-8 1.71 dd(J=8.7,8.7 Hz)。高场区为 16 位甲基化学位移 1.12 d(J=7.1 Hz)和 17 位的三个甲基 18,19,20,呈 9 个质子的单峰,化学位移为 1.02。

银杏内酯 C 的^{1}H-NMR 谱,低场部分可被重水交换的羟基质子共四个,计为 OH-10 7.54 d(J=4.8 Hz),OH-3 6.48 s,OH-7 5.66 d(J=6.2 Hz)和 OH-1 4.77 d(J=4.2 Hz)。H-12 为 6.10 s,γ 环上的质子 H-6 4.96 d(J=4.4 Hz),H-2 4.62 d(J=7.4 Hz),和羟基旁的质子 H-10α 4.99 d(J=4.8 Hz),H-7α 4.04 ddd(J=14.4,4.4,6 Hz)和 H-1β 3.97 dd(J=7.3,4.2 Hz)。再向高场为 H-14 2.81 q(J=7.1 Hz)和 H-8 1.54 d(J=14.4 Hz)。高场甲基区由于银杏内酯 C 8 位叔丁基受 7 位羟基的影响化学位移略比银杏内酯 A 和 B 处于高场 1.09 s 与 H-16 甲基化学位移 1.10 d(J=7.1 Hz)重叠。

白果内酯是结构与银杏内酯密切相关的另一种银杏萜内酯成分。熔点 300℃以上,相对分子质量 326,分子式 $C_{15}H_{18}O_8$,由于其骨架为 15 个碳原子组成,因而被列为倍半萜,但实际并不是有三个异戊烯组成,不同于一般的倍半萜。从分子结构来看白果内酯正好是银杏内酯的氧化开裂产物,并伴随着 8 位羟基化和 6 位羟基差向异构化,因此白果内酯原子位置排列也是按银杏内酯原来的位置命名。

白果内酯^{1}H-NMR 谱低场区主要出现两个可被重水交换的羟基质子峰 7.25 d(J=5.0 Hz)为 OH-10,5.40 s 为 OH-8。另外,低场质子有 6.27 s H-12,5.14 d(J=5 Hz),H-10,和 4.91 dd(J=7,7 Hz)H-6。较高场区有 2.76d(J=18 Hz)和 2.89 d(J=18 Hz),是为 1 位的两个同碳质子,同碳偶合裂分常数为 18 Hz,2.56 dd(J=7,13 Hz)H-7β 和 2.06 dd(J=7,13 Hz)为 7α,高场甲基化学位移为 1.02 s 的 9 个质子是为 C-18、C-19、C-20 三个甲基。

二、银杏萜内酯类的^{13}C-NMR 谱

银杏内酯 A、B、C 与白果内酯于 DMSO-d_6 中以 PS-400 仪器测定^{13}C-NMR 的数据见表 9-3。

表 9-3 银杏萜内酯的^{13}C-NMR 谱(100MHz,DMSO-d_6)

位置	ginkgolide A	ginkgolide B	ginkgolide C	bilobalide
C-1	35.908 t	73.745 d	73.592 d	35.732 t
C-2	84.105 d	91.802 d	91.879 d	177.329 s
C-3	68.044 s	82.883 s	82.871 s	
C-4	100.237 s	98.433 s	98.195 s	173.112 s
C-5	86.044 s	71.679 s	66.368 s	57.775 s
C-6	87.671 d	78.584 d	79.018 d	82.835 d
C-7	36.283 t	36.571 t	73.931 d	41.609 t
C-8	48.548 d	48.514 d	48.906 d	85.671 s
C-9	66.804 s	67.400 s	63.701 s	65.349 s
C-10	68.709 d	69.034 d	68.917 d	68.284 d
C-11	174.283 s	173.943 s	173.889 s	173.605 s
C-12	109.475 d	109.588 d	109.456 d	99.324 d
C-13	170.748 s	170.263 s	170.551 s	
C-14	40.408 d	41.497 d	41.510 d	

续表

位置	ginkgolide A	ginkgolide B	ginkgolide C	bilobalide
C-15	176.553 s	176.374 s	176.373 s	
C-16	8.149 q	7.840 q	7.899 q	
C-17	31.912 s	31.964 s	31.903 s	37.124 s
C-18,19,20	28.851 q	28.849 q	28.886 q	26.592 q

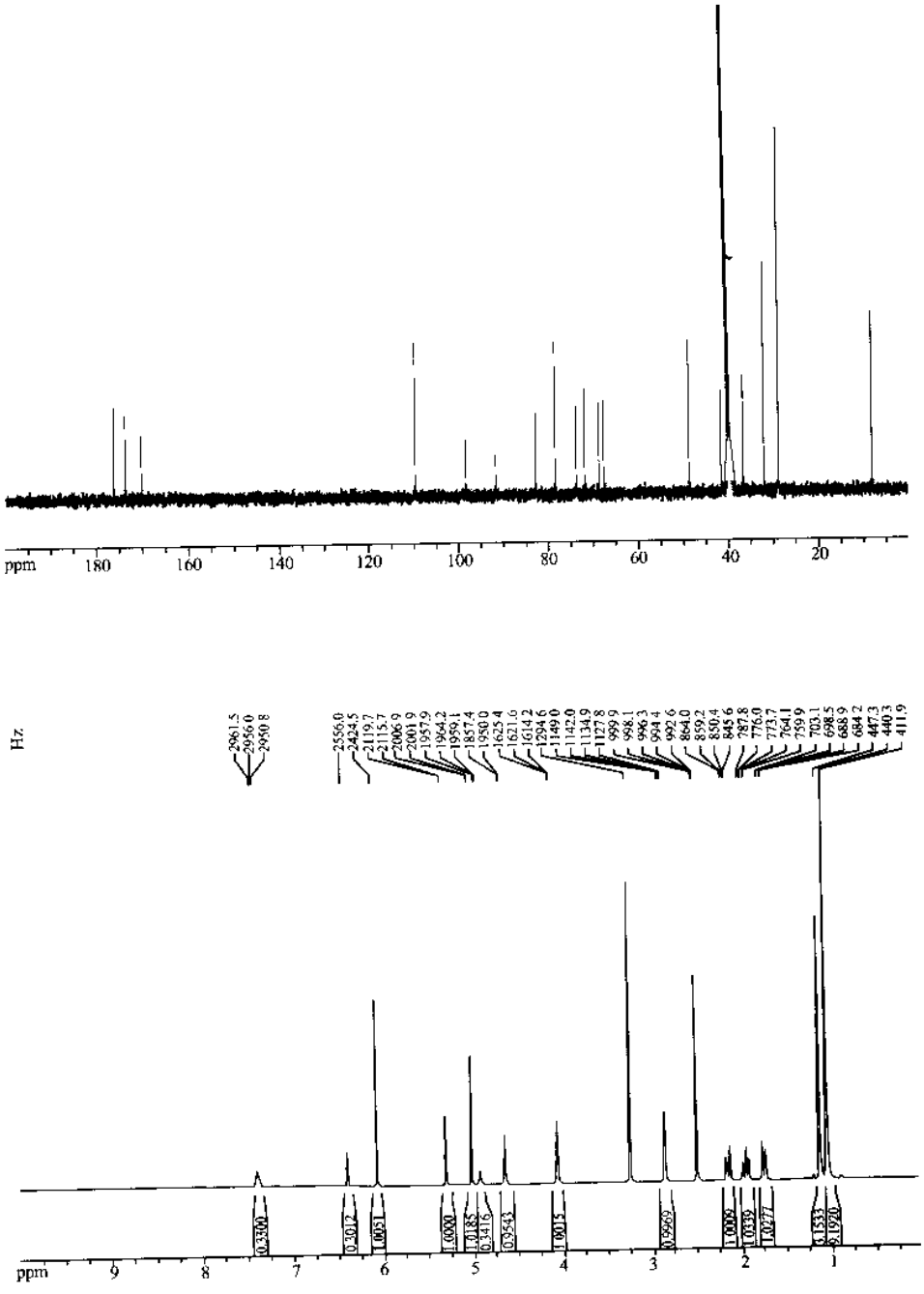


图 9-7　银杏内酯 B 的^{13}C 和^{1}H 核磁共振谱图(溶剂 DMSO-d_6)

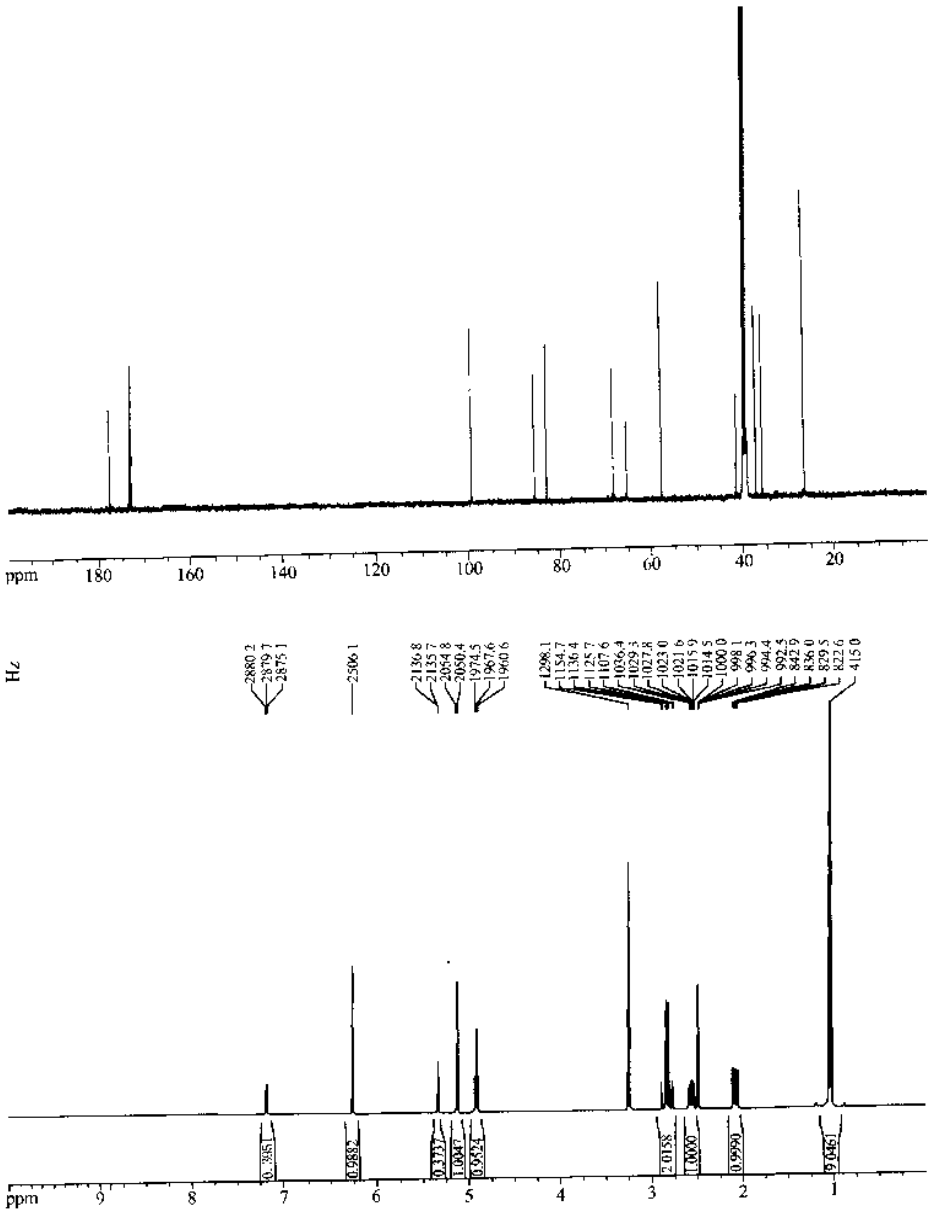


图 9-8 白果内酯的^{13}C和^{1}H核磁共振谱图(溶剂 DMSO-d_6)

三、银杏萜内酯类的二维谱

早先 Roumestand 等曾报道了银杏内酯 B 的^{1}H-^{1}H 同核相关谱、^{1}H-^{13}C 异核相关谱、^{1}H-^{13}C 异核远程相关谱(COLOC)、异核 J 分解谱及 C-C 相关双量子相关谱 (INADEQUATE)[11]。

1. 银杏内酯 B 和白果内酯的^{1}H-^{1}H 同核相关二维谱

银杏内酯 B 的^{1}H-^{1}H COSY(图 9-9)明显显示 1.11 d 即 H-16 甲基的三个质子与 2.87 d H-14 相关。1.72 dd H-8 与 1.93 ddd H-7α 以及 2.14 dd H-7β 有相关点。1.93 ddd H-7α 除与 1.72 dd H-8 相关外并与 2.14 dd H-7β 相关。2.14 dd H-7β 与 1.72 dd H-8 及 1.93 ddd H-7α 相关。另外,H-7α 与 5.30 d H-6 有相

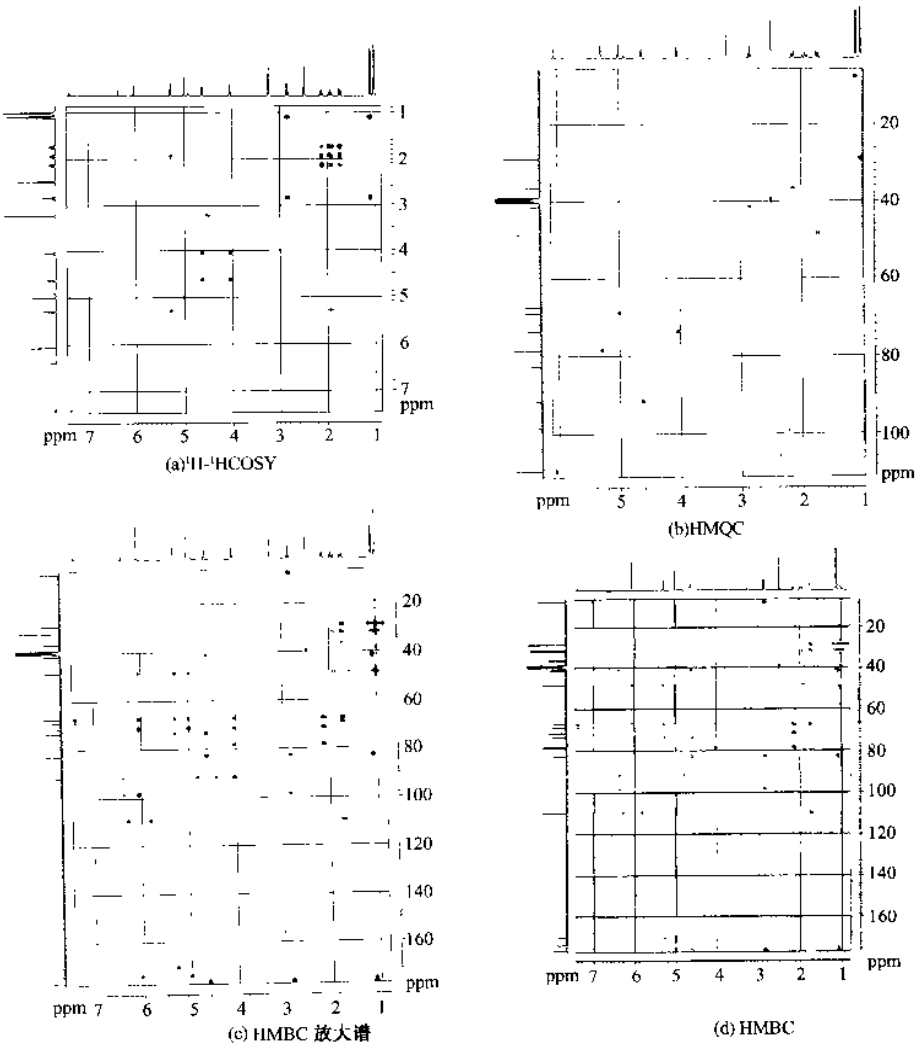


图 9-9　银杏内酯 B 的二维核磁共振谱图

关点。4.04 dd H-1β 与 4.63 d H-2 及 4.94 d OH-1 相关。5.02 d H-10α 与 7.48 d OH-10 相关。这些相关关系也均与前节 2.4.1 中银杏内酯 B 中各组质子的峰型及裂分常数所显示的一致。

白果内酯的^{1}H-^{1}H COSY(图 9-10)显示 2.83 d 和 2.97 d 为互相偶合的两个 H-1 质子。2.02 ddd,2.49 ddd 互相偶合的二组峰为 H-7 质子，二者均与 4.92 dd (H-6)偶合。其他还有 5.16 d (H-10)与 7.20 d (10-OH)相关，这些相关关系均与结构一致。

2. 银杏萜内酯 B 和白果内酯的 HMQC 和 HMBC 谱

近代二维谱技术发展极快，各种技术各有特色。但近年在解决化学结构问题上，以^{1}H 探测异核多量子相干谱(^{1}H detected heteronuclear multiple quantum coherence，HMQC)和^{1}H 探测异核多键连接谱(^{1}H detected heteronuclear multiple band coherence，HMBC)比较简单实用。现将银杏内酯 B 和白果内酯的 HMQC 和 HMBC 谱 (图 9-9 和图 9-10)的结果归纳为表 9-4 和表 9-5。这些实验结果均与银杏内酯 B、白果内酯的结构相符。

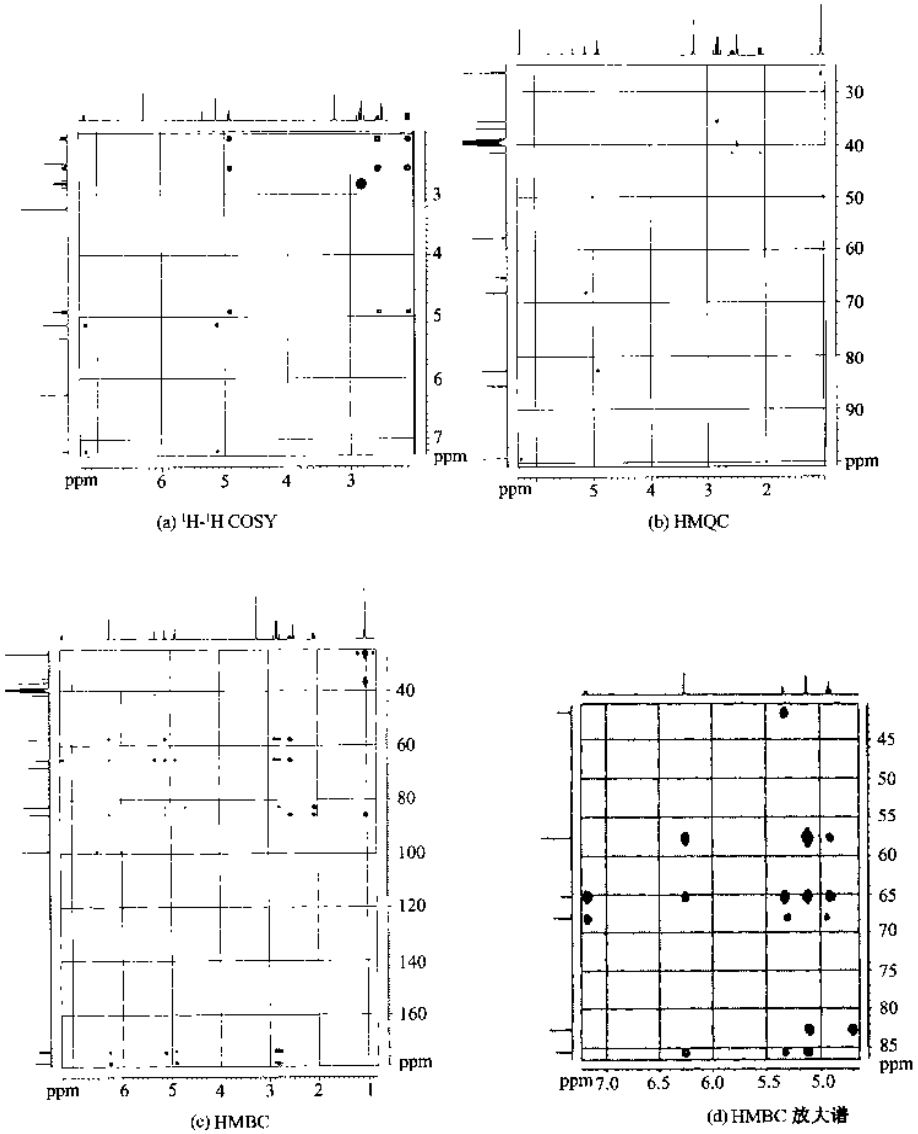


图 9-10 白果内酯的二维核磁共振谱图

表 9-4 银杏内酯 B 的 HMQC 和 HMBC 的相关关系表

位置	ginkgolide B			
	δ_H	δ_C	HMQC[1)]	HMBC[1)]
18,19,20	1.03 s	28.849	18,19,20	7 ,8,17,18,19,20
16	1.11 d	7.840	16	3,14,15
8	1.71 dd	48.514	8	7,9,10,12,17,18,19,20
7α	1.93 ddd	36.571	7	8,17
7β	2.14 dd		7	5,6,9
14	2.84 q	41.497	14	3,4,16
1β	4.04 dd	73.745	1	2,5,6,9
2	4.63 d	91.802	2	1,3,14,15
10α	5.02 d	69.034	10	5,8,9
6	5.30 d	78.584	6	1,8,9
12	6.07 s	109.588	12	2,4,5,8,9

1) carbons that correlate with the proton resonance.

表 9-5　白果内酯的 HMQC 和 HMBC 的相关关系表

位置	bilobalide			
	δ_H	δ_C	HMQC[1)]	HMBC[1)]
18,19,20	1.04 s	26.592	18,19,20	8,17
7	2.02 ddd	41.609	7	6,8
	2.49 ddd			5,9
1	2.83 d	35.732	1	5,6,9
	2.97 d	7		5,6,9
6	4.92 dd	82.835	6	2,9,11
10	5.16 d	68.284	10	4,5,6,8,9
12	6.27 s	99.324	12	4,5,8,9,11

1) carbons that correlate with the proton resonance.

第五节　银杏萜内酯的化学反应

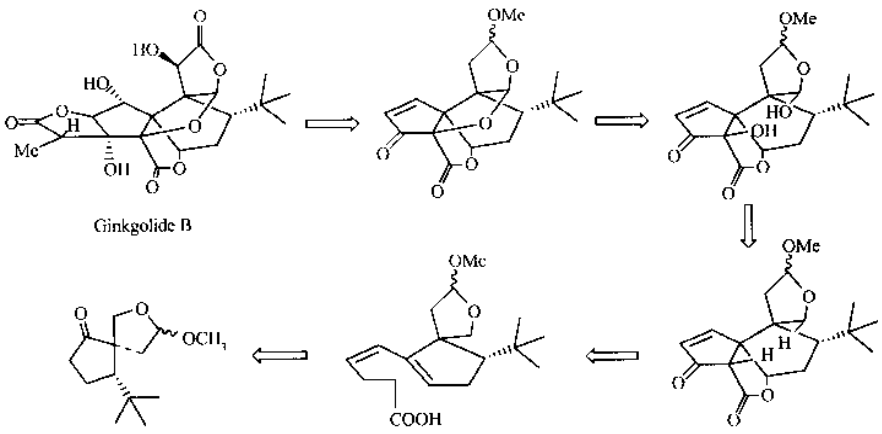
20 世纪 80 年代初，P. Braquet 研究小组发现了银杏中特有成分银杏内酯是特异性的血小板活化因子(PAF)拮抗剂[5]。这一发现大大推动了银杏内酯的全合成、结构和拮抗 PAF 活性的构效关系、药理和临床的深入研究，使它有望成为治疗许多疾病的新型药物。本节就银杏帖内酯的全合成研究、生物合成研究、化学转化、构效关系研究等方面做一综述。

一、银杏内酯的全合成研究

鉴于银杏内酯特有的、复杂的且广泛的生理活性，吸引了许多研究小组对银杏内酯的全合成研究，至今有两家报道完成了它的全合成工作。

1988 年，Corey 研究小组首次报道外消旋银杏内酯 B 的全合成，随后又对该路线进行对映选择性修饰，通过 20 多步反应，合成了天然形式的银杏内酯 B 和 A[12-14]。

逆合成分析[15]：



由于 B 环的手性中心上有一个较大的取代基——叔丁基，它的立体构型一旦确定，便决定了 C_9 及 C_5、C_6 的构型，因此将 B 环作为起始环。

前体 **10** 为合成银杏内酯 B 的关键中间体，它的合成见图 9-11。

2-(2,2-二甲氧基)环戊烯-1-酮(7)进行高度立体选择性催化还原，生成的醇 **8** 主要为 *R* 型，非立体选择

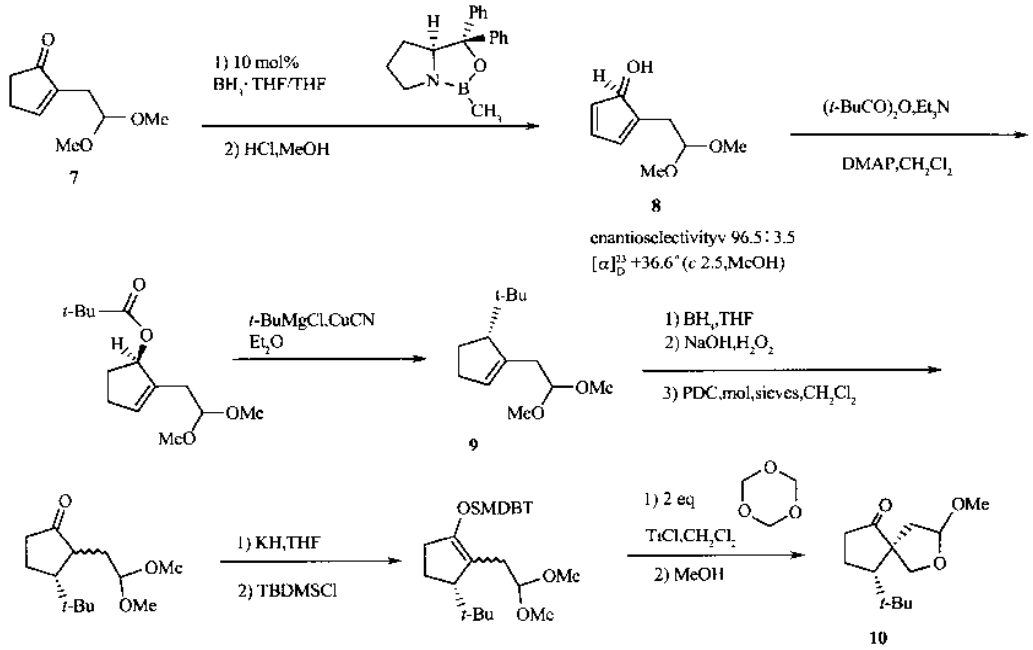


图 9-11

性比为 96.5∶3.5，用 *t*-BuMgCl 和 2.3 mol CuCN 试剂进行逆 S_N2' 取代反应，生成 **9**，其手性中心上的叔丁基决定了化合物 **10** 中的手性中心的构型，得到的 **10** 为非对映异构体（反式∶顺式＝2∶1，产率 79%）。

在 **10** 上连接 A 和 E 环的合成途径见图 9-12。

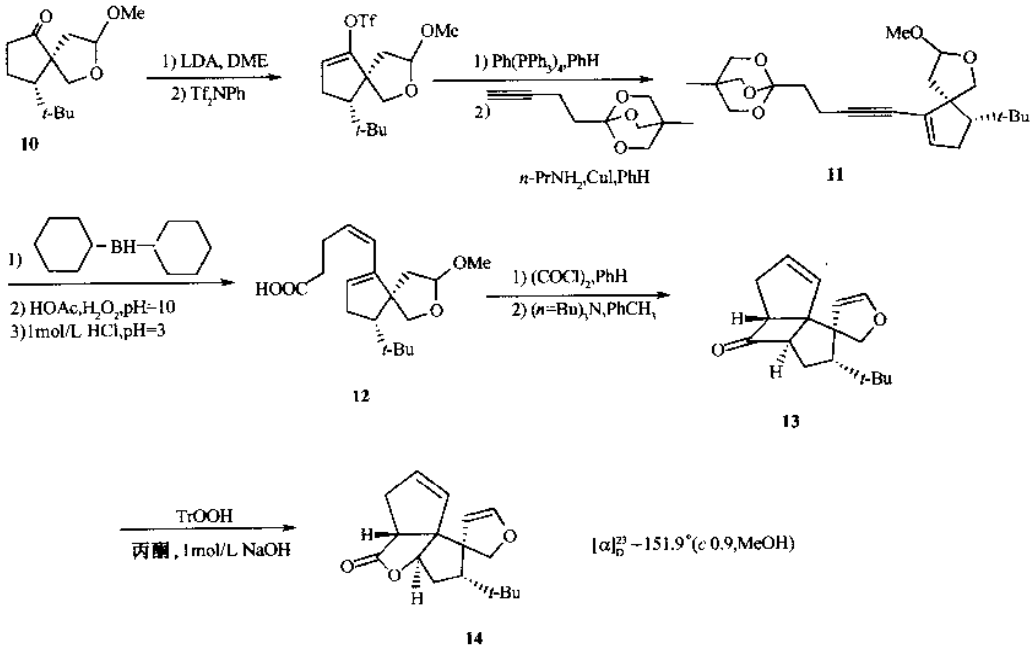


图 9-12

10 的烯醇三氟酸酯在 Pd 催化下与戊炔酸原酯偶联得 **11**，还原去保护的二烯酸 **12**。**12** 转化为相应的酰氯，在叔胺的甲苯溶液中回流生成烯酮，随后发生分子内加成反应，得到立体选择性四环酮 **13**。碱性条件下

用三苯甲基过氧化氢进行选择性环扩增，得到四环内酯 **14**。重结晶后得到 100% 非对映异构体。

内酯 **14** 通过图 9-13 所示途径完成 D 环的合成，得到 **15**。

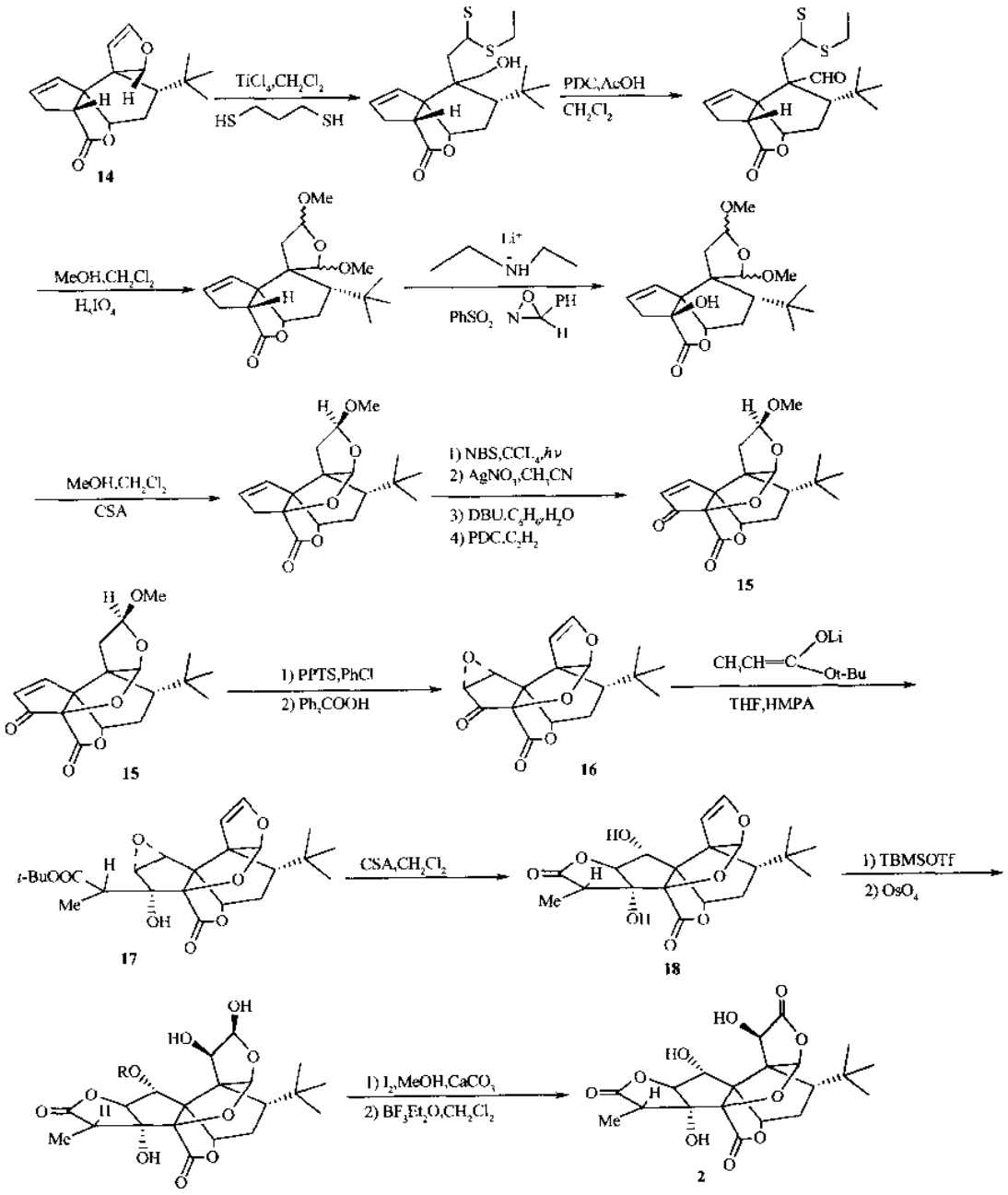


图 9-13　F 环的合成

最后在 **15** 上连接 F 环的条件非常苛刻，**15** 消去甲醇，在碱性条件下环氧化得环氧内酯 **16**，在 THF-HMPA 中与叔丁基丙酸锂进行立体选择性反应 **17**，樟脑-10-磺酸(CSA)催化 **17** 内酯化得 **18**，**18** 通过四步反应最后得银杏内酯 B(**2**)。

四环内酯 **18** 也可以转变为银杏内酯 A，如图 9-14 所示。

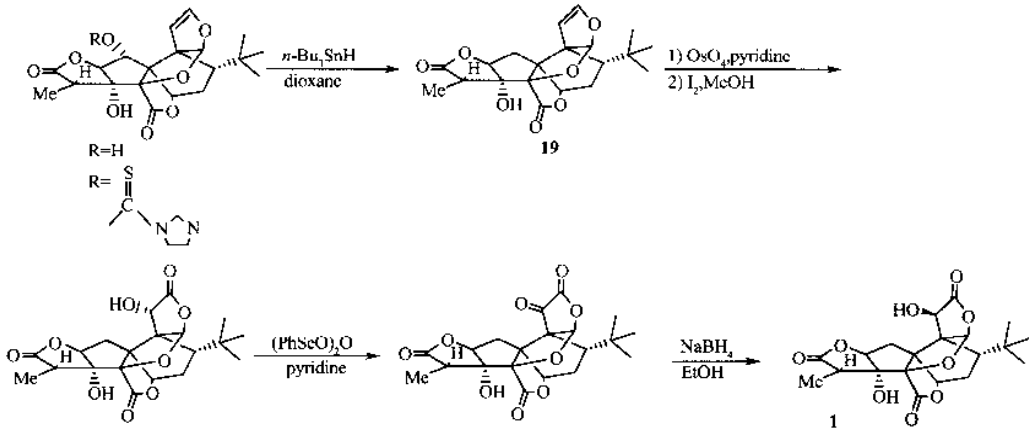
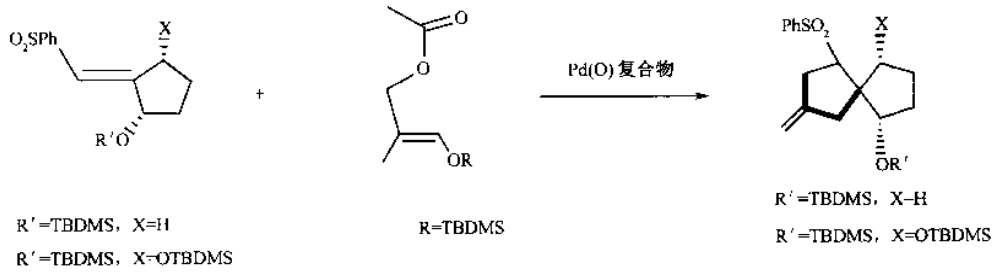


图 9-14

18 转变为咪唑巯基衍生物，先与三正丁基氢化锡反应，然后进行羟基化和氧化反应得 **19**，再经过氧化、还原反应得银杏内酯 A(**1**)。

B. M. Trost 和 M. Acemoglu 利用非对映控制的[3+2]环加成反应构建银杏内酯 B 的 A、B 环[16]。



Crimmis 和 Thomas 通过分子内的呋喃-烯酮[2+2]光环化反应建立了内酯的骨架[17]。1999 年，他们通过此方法完成了银杏内酯 B 的全合成(图 9-15)[18,29]。

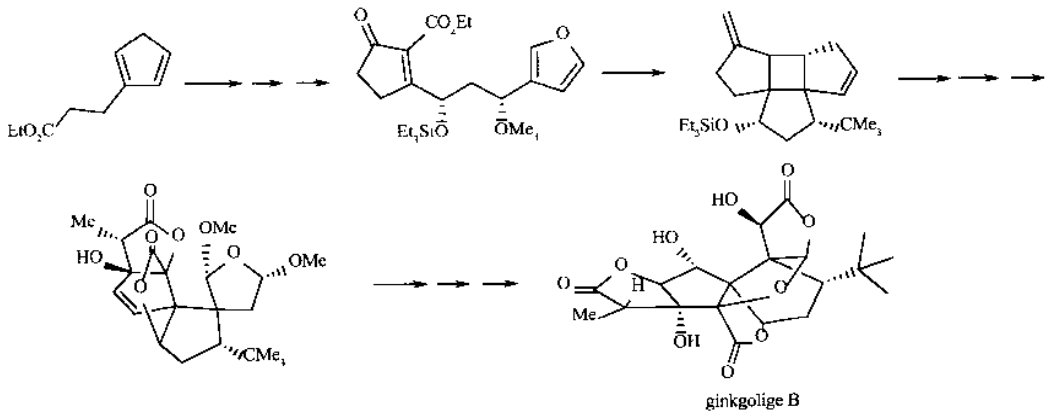


图 9-15

二、银杏内酯的生物合成研究[20]

Nakanishi 和 Habaguchi 研究了银杏内酯 B 的生物合成途径。他们认为，内酯 B 的骨架由甲瓦龙酸和蛋氨酸构成。内酯 B 的一个直接前体 entpimaradienone 正离子通过 geranylgeranyl pyrophosphate 的环化形成。此前体再经三个重大的修饰，合成内酯 B：(①)甲基从 C_3 到 C_{14}的迁移；(②)在保证立体化学构型下，特征螺甾环九烷的形成；(③)叔丁基的形成。

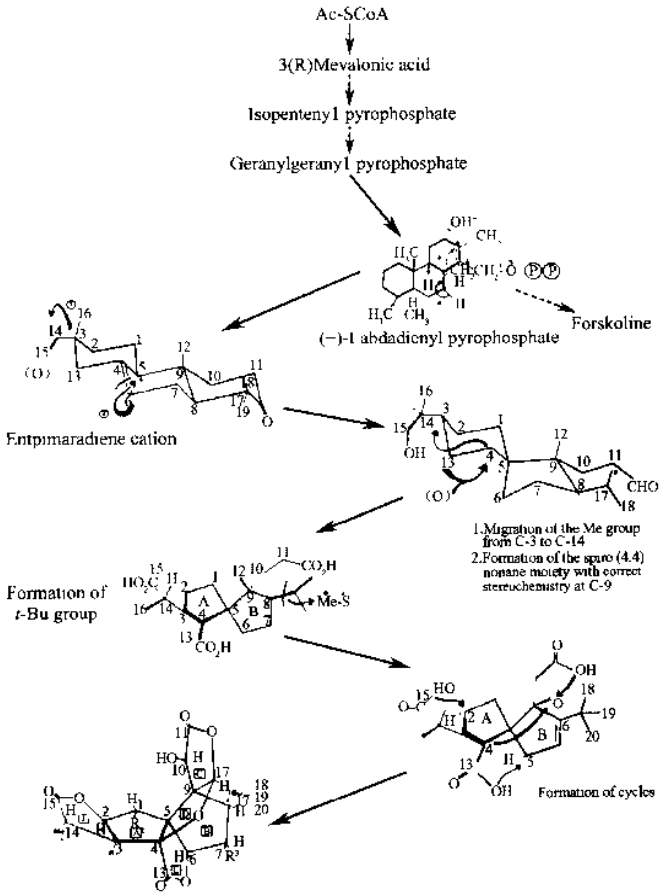


图 9-16　银杏内酯的可能生物合成途径[20]

三、天然银杏内酯的相互沟通反应

ginkgolide A 和 ginkgolide B 通过酰化、氢化等反应得到相同的产物(图 9-17)[21]。

ginkgolide C 和 ginkgolide J 用相同的反应也得到相同的反应产物(图 9-18)[22]。

ginkgolide C 和 ginkgolide M 区别在 C 中为 3-OH，在 M 中为 3-H。通过酰化、氢化和异构化将内酯 C 转变成内酯 M(图 9-19)[23]。

银杏内酯 C 的 C_7 位羟基选择性的氢化可以转变成内酯 B(图 9-20)[24,25]。

1997 年，有一美国专利报道，银杏内酯 C 经两步反应可以转变成内酯 B(图 9-21)[26]。

2000 年，Weinges 报道^{14}C 标记的银杏内酯 A 的合成，这为药理学、药代学研究带来极大的便利[27]。

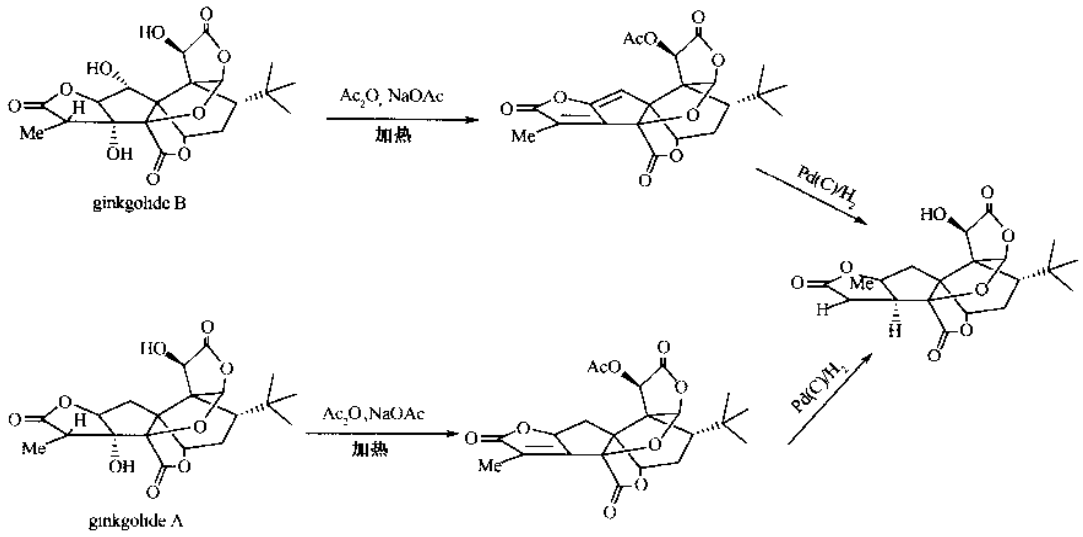


图 9-17

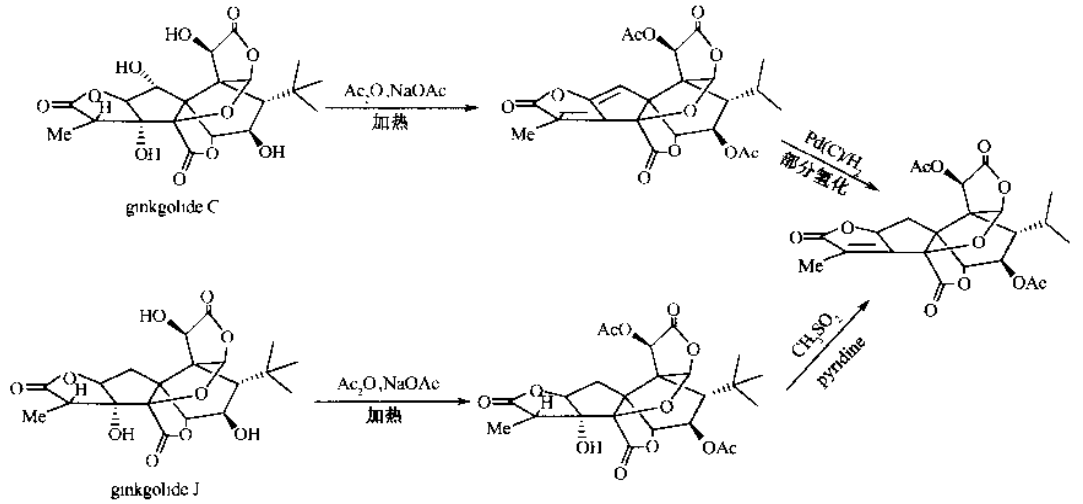


图 9-18

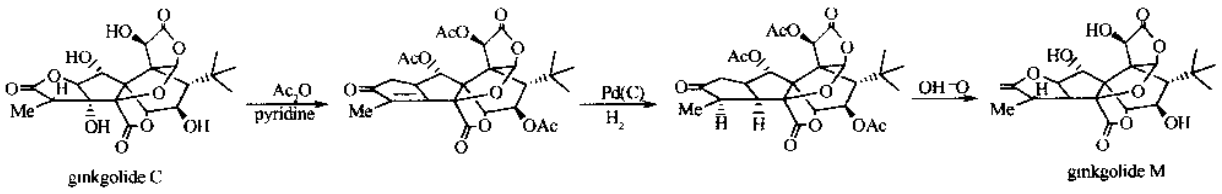


图 9-19

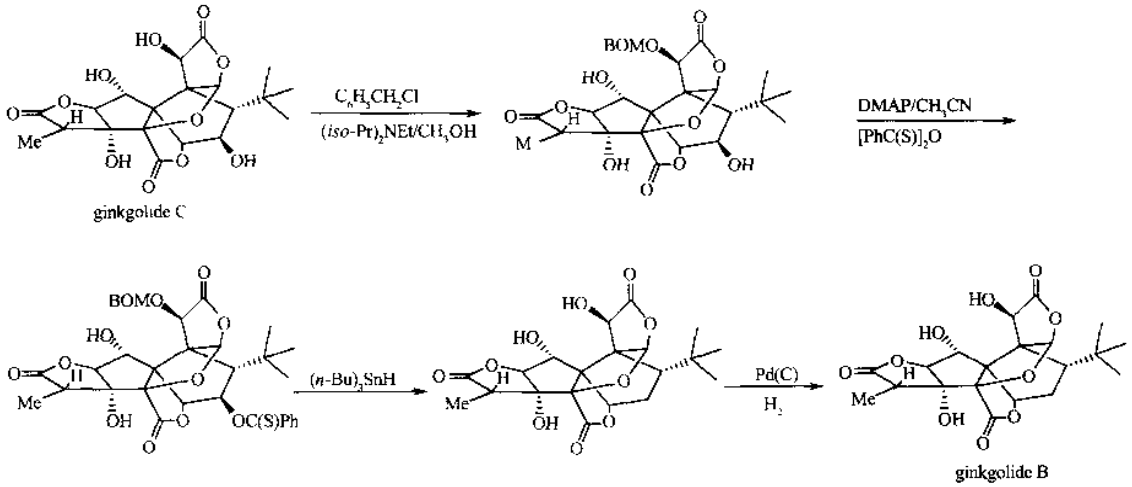


图 9 20

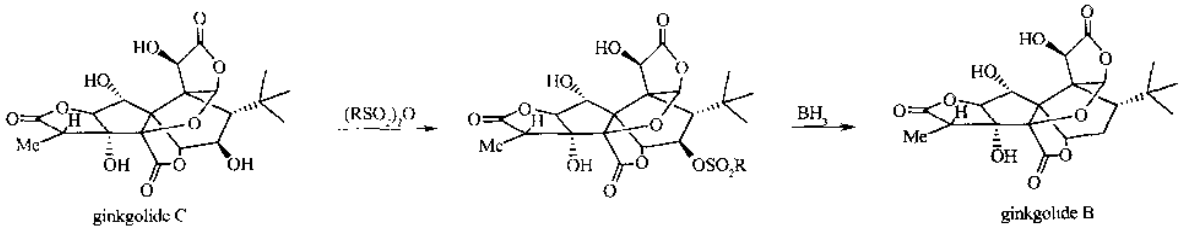


图 9-21

四、银杏内酯的类似物合成及其拮抗 PAF 活性的构效关系研究

银杏内酯竞争性的抑制 PAF 对它的膜蛋白血小板受体的作用。天然银杏内酯 A、B、C 和 M 抑制活性(IC_{50})分别为 0.74 μmol/L、0.25 μmol/L、7.1 μmol/L 和 54.0μmol/L，其中银杏内酯 B 的活性最高。分子结构分析发现，在 C_1 和 C_3 位有羟基取代的银杏内酯的活性最高；相反，对于银杏内酯 C 和 J，其分子的疏水性部位叔丁基的 α 位 C_7 被羟基取代，则生物活性大大下降；对于银杏内酯 A，C_1 位没有羟基取代，其活性也有所下降。

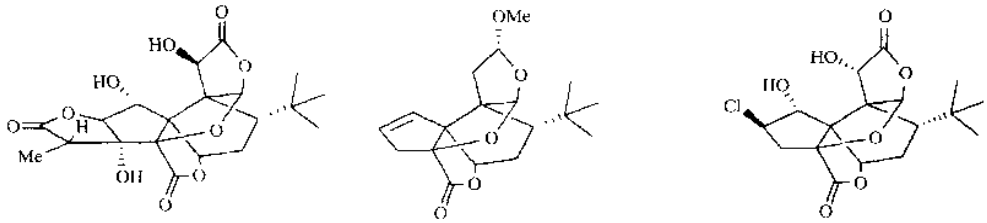
研究还表明，如果银杏内酯的内酯环被破坏，将导致生物活性的降低。

表 9-6　化合物 20～34 体外拮抗 PAF 活性

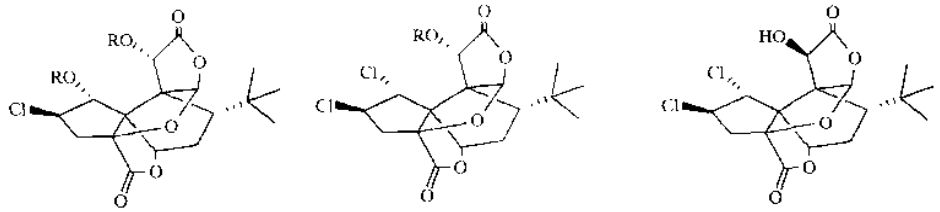
化合物	PAF-induced platelet aggregation IC_{50}/(μmol/L)	化合物	PAF-induced platelet aggregation IC_{50}/(μmol/L)
2 (ginkgolide B as control)	0.6	**29**	9.4
20	120	**30**	13
21	>200	**31**	11
22	1.1	**32**	21
23	0.3	**33**	9.2
24	0.4	**34**	2.9
25	0.2	**35**	14
26	1.3	**36**	0.6
27	76	**37**	80
28	13	**38**	38

由于银杏内酯是刚性笼状结构，且银杏内酯类化合物在结构上的微小变化就能产生较大的生物活性改变，故通过银杏内酯类化合物的系统的结构修饰、活性评价能发现银杏内酯结构的活性部位，并得到结构更简单、疗效更高的 PAF 拮抗剂。化合物 **20～34** 体外拮抗 PAF 活性见表 9-6。

Corey 等在银杏内酯全合成的基础上合成了一系列银杏内酯的类似物（结构式见图 9-22），并进行了生物活性测定，从中定性地得到结论：可以得到结构较银杏内酯 B 简单而生物活性更强的 PAF 拮抗剂，并且银杏内酯 B 中对抗 PAF 最显要的功能团是 C(4)～C(12)间的醚桥、8 位的叔丁基和可能的 C(4)～C(16)内酯环桥[28-30]。



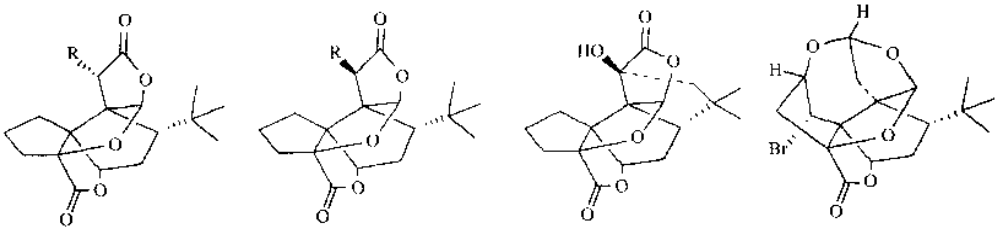
2　　**20**　　**21**



22 R=H
23 R=CH_2OCH_3

24 R=H
25 R=CH_2OCH_3

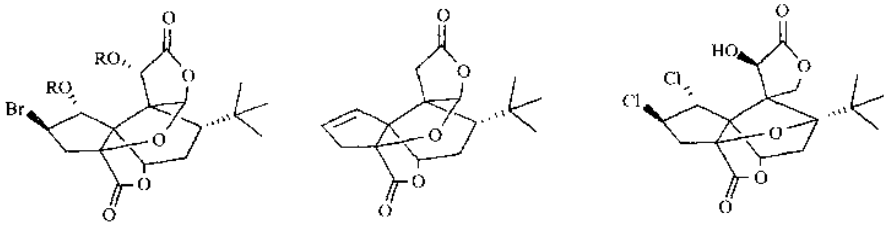
26



27 R=OH
28 R=OAc
29 R=OCH_2OCH_3

30 R=OH
31 R=OAc
32 R=OCH_2OCH_3

33　　**34**

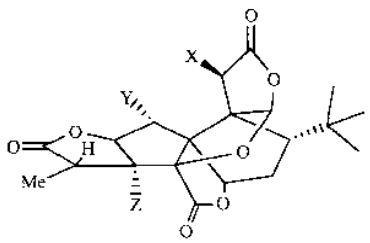


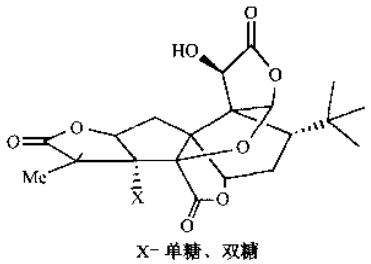
35 R=H
36 R=CH_2OCH_3

37　　**38**

图 9-22

为了改善银杏内酯的水溶性，1997 年 Martin 等报道了合成一系列银杏内酯糖苷衍生物[31]。



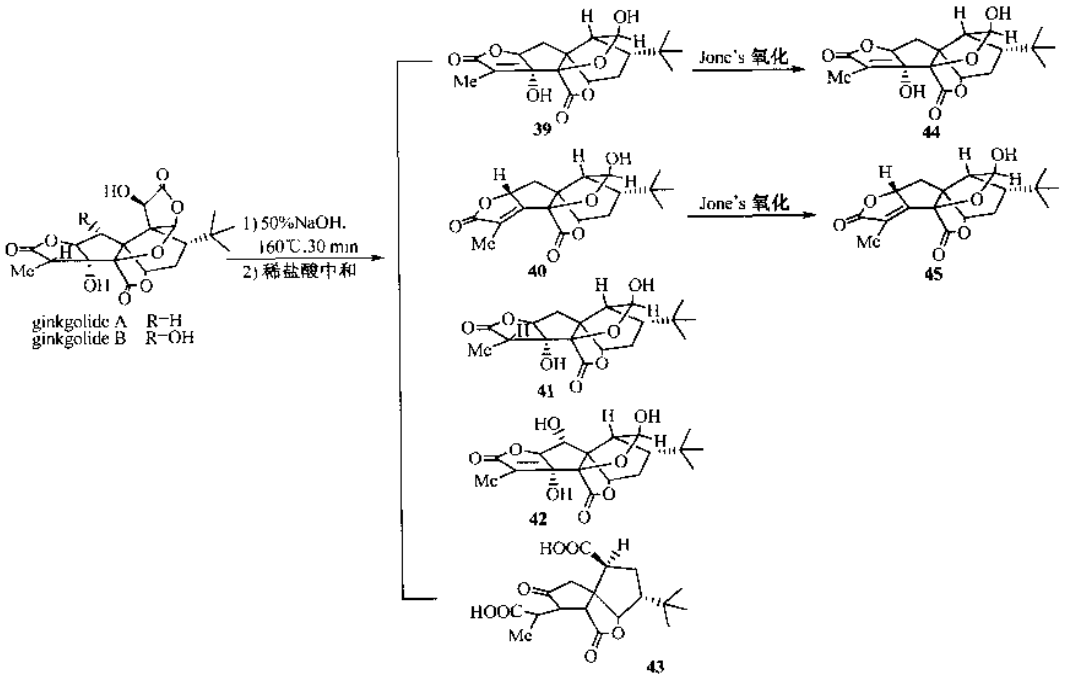


为了进一步阐明银杏内酯的结构与拮抗 PAF 活性的关系，我们从银杏内酯 A、B 出发，合成了四类银杏内酯类似物[32~35]：①无 F 环、C 环的类似物，研究各环对拮抗 PAF 活性的影响；②内酯羰基被还原的类似物，研究更加柔性的银杏内酯分子对拮抗 PAF 活性的影响；③羟基被酯化、醚化的类似物，研究各羟基及修饰基团对拮抗 PAF 活性的影响；①含氮的银杏内酯类似物，研究引入氮杂原子后对拮抗 PAF 活性及溶解性的影响。

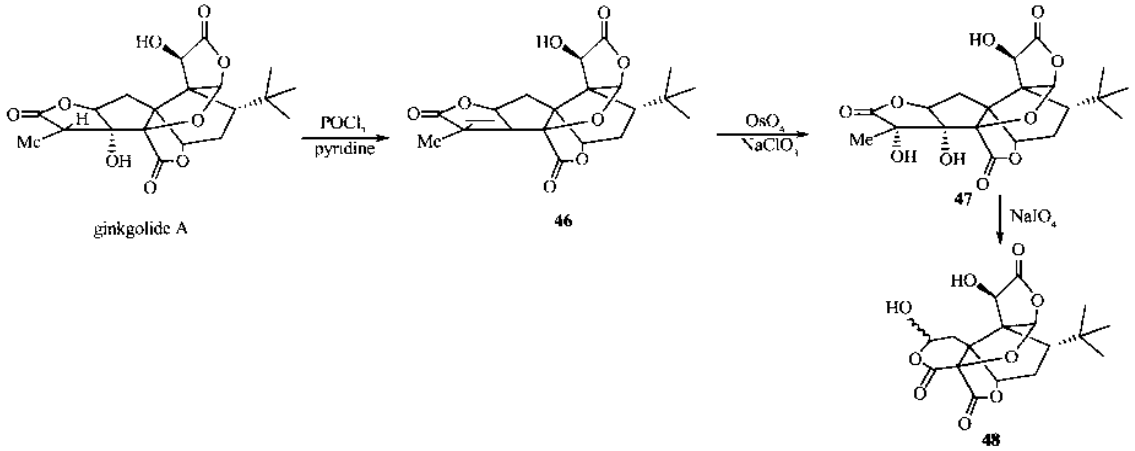
1. 无 F 环、C 环的类似物制备和拮抗 PAF 活性的构效关系

文献报道用浓碱处理含 α-羟基酯的底物时可产生失去草酸的产物，鉴于银杏内酯结构的 C 环含 α-羟基内酯，我们想利用此反应合成无 C 环类似物。

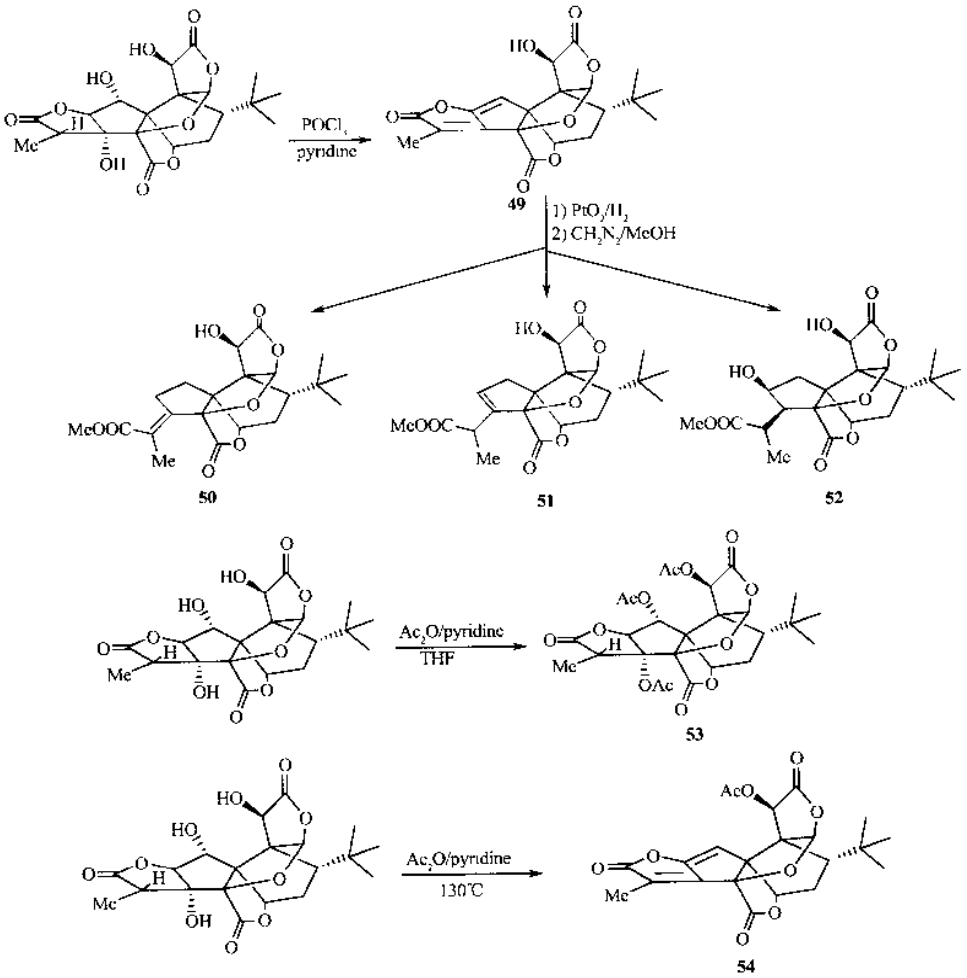
用 KOH 熔融处理银杏内酯 A、B 混合物（在 160～170℃ 保持 0.5h），得到无 C 环银杏内酯类似物（**39**～**45**）。



以银杏内酯 A、B 为原料都能制备无 F 环银杏内酯类似物。以 ginkgolide A 为原料经脱水得化合物 **46**，**46** 用 OsO_4-$NaIO_4$ 氧化断裂得无 F 环类似物 **48**。**48** 是一对互变异构体。



银杏内酯 B 脱水得化合物 **49**,**49** 经催化氢解得无 F 环类似物 **50**,**51** 和 **52**。我们在研究脱水反应时使用了两种脱水剂：一是 Ac_2O/pyridine，并以 THF 为反应溶剂，得到的是乙酰化产物 **53**，以 pyridine 直接为反应溶剂得到的是 10-OH 被乙酰化的脱水产物 **54**；另一是 $POCl_3$/pyridine，它比用 Ac_2O/pyridine 作为脱水剂的产率高。



从表 9-7 数据可以看出无环 C 的银杏内酯类似物拮抗 PAF 的活性大大降低。比如 **41** 的拮抗 PAF 的活性就比银杏内酯 A 低 100 倍，**39** 的活性比 **46** 也要降低 4 倍。无环 C 的银杏内酯类似物 **40** 位的立体构型对拮抗 PAF 活性也有一定的影响。比如 **40**、**45** 活性分别是 **39**、**44** 的 1.6 倍和 2.2 倍。12 位的半缩醛官能团转换成内酯对拮抗 PAF 活性影响不大。

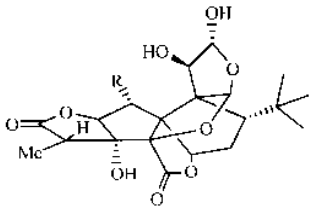
表 9-7　C-nor-ginkgolide 和 F-nor-ginkgolide 类似物体外生物活性

化合物	PAF-induced platelet aggregation $IC_{50}^{1)}$/(μmol/L)	化合物	PAF-induced platelet aggregation $IC_{50}^{1)}$/(μmol/L)
ginkgolide A (1)	0.410 (0310 -0.557)	**46**	17.8 (15.4~ 19.6)
ginkgolide B (2)	0.128 (0.102~0.145)	**47**	77.7 (71.2~85.4)
39	86.7 (73.4~90.3)	**48**	87.4 (72.1~93.8)
40	54.0 (30.7~69.5)	**49**	74.1 (68.0~93.2)
41	44.8 (35.1 - 52.7)	**50**	14.2 (12.7~17.2)
42	50.2 (40.9 - 67.2)	**51**	16.3 (13.5~18.4)
43	90.2 (76.4 -103.3)	**52**	112　(101~135)
44	80.4 (66.4 ~95.7)	**53**	97.9 (87.4~105)
45	40.9 (29.1 ~63.7)	**54**	86.8 (81.9~97.6)

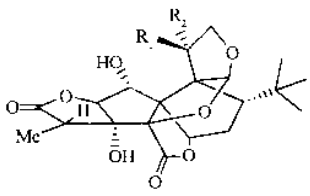
1)Concentration required to inhibit PAF-induced maximum aggregation by 50% Parentheses contain 95% confidence limits.

无环 C 的银杏内酯类似物拮抗 PAF 的活性也大大降低。在 A 环上没有极性基团羟基取代的化合物的活性比银杏内酯 B 降低 100 倍，而有羟基取代的降低 700 倍。银杏内酯 A、B 脱水产物的活性均有较大的降低，尤其是 1,3-羟基都脱去的化合物活性降低很大。几个羟基的乙酰化产物的活性也降低 700～800 倍。说明羟基可能通过氢键及静电方式与受体作用，故它们的保留有利于活性的提高。从上述分析得出环 F 对拮抗 PAF 活性贡献较大，且 1,3-羟基的存在有利于活性的提高。

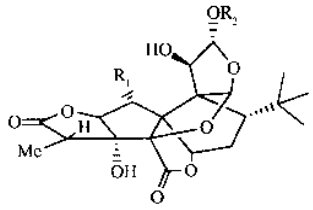
2. 内酯羰基被还原的类似物的制备和拮抗 PAF 活性的构效关系



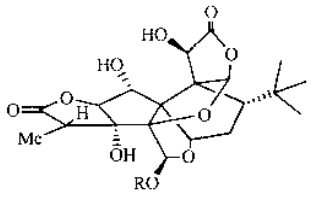
55　R=H
56　R=OH



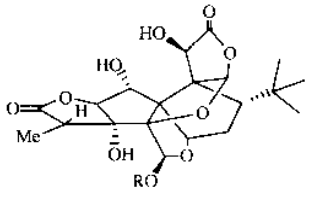
57　R_1=H, R_2=OH
58　R_1=OH, R_2=H



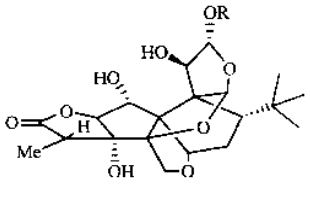
59　R_1=H, R_2=Me
60　R_1=OH, R_2=*n*-Bu



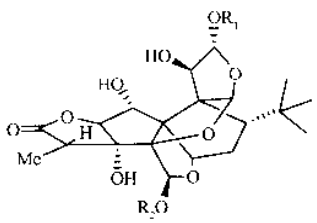
61　R=Me
62　R=Et
63　R=*n*-Bu



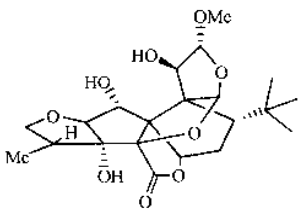
64　R=Me
65　R=Et
66　R=*n*-Bu



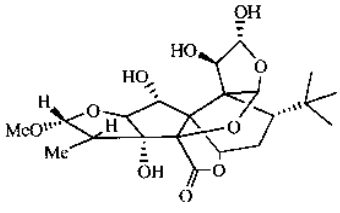
67　R=H
68　R=Me



69　R_1=R_2=OMe
70　R_1=R_2=OEt
71　R_1=H, R_2=Et



72



73

表 9-8 ginkgolide 被还原类似物的体外生物活性

化合物	PAF-induced platelet aggregation $IC_{50}^{1)}$/(μmol/L)	化合物	PAF-induced platelet aggregation $IC_{50}^{1)}$/(μmol/L)
55	13.2 (11.5~16.7)	**65**	7.19 (5.62~8.13)
56	6.34 (5.29~8.47)	**66**	37.7 (30.3~45.6)
57	29.9 (17.2~40.3)	**67**	101 (93.4~117)
58	3.85 (2.97~4.52)	**68**	123 (92.8~147)
59	89.7 (57.3~103)	**69**	11.2 (9.47~13.5)
60	646 (607~695)	**70**	112 (103~133)
61	7.58 (6.47~8.51)	**71**	4.62 (3.27~6.17)
62	71.9 (67.8~80.4)	**72**	98.0 (78.1~114)
63	109 (93.2~124)	**73**	50.5 (37.9~65.2)
64	4.02 (3.19~6.15)		

1) Concentration required to inhibit PAF-induced maximum aggregation by 50%. Parentheses contain 95% confidence limits.

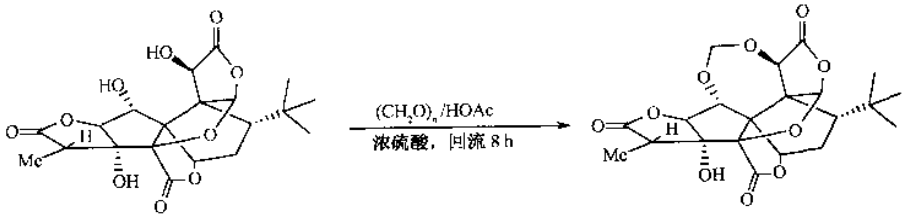
银杏内酯 A、B 混合物的甲醇溶液在 0℃ 与 $NaBH_4$ 反应 12h 后，酸化后经硅胶层析没有得到单体。其可能原因是内酯羰基被还原成半缩醛结构，其 α、β 异构体存在一个平衡。还原产物经乙酰化后分得 4 个单体，随后运用较大量的银杏内酯 A、B 混合物 5 g 以 $NaBH_4$ 还原，酸化后在甲醇中回流 4 h，反复柱层析得 12 个单体。用乙醇、正丁醇替代甲醇回流，又得 9 个单体。

从化合物 **55**~**73** 的 IC_{50}值分析，三个内酯羰基被还原，拮抗 PAF 活性均产生不同程度的降低。11-内酯羰基被还原，活性降低 100 倍，还原甲基化活性大约降低 200 倍；13-内酯羰基被还原，活性降低 25 倍；15-内酯羰基被还原，活性也降低几十倍。从还原甲醚化、还原乙醚化、还原正丁醚化产物的 IC_{50}值可看出，随着链的增长，非极性的加大，活性降低。

3. 羟基被酯化、醚化的类似物制备和拮抗 PAF 活性的构效关系

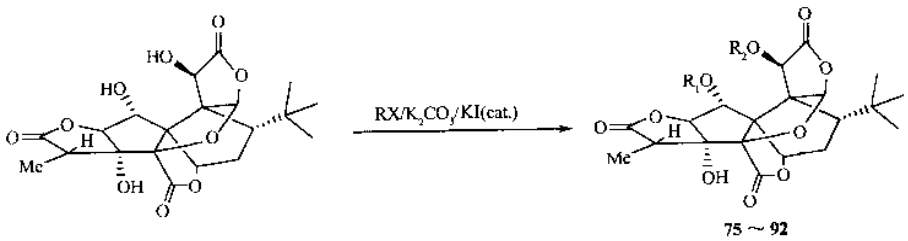
因银杏内酯 A、B、C、J 和 M 仅在羟基的取代位置、个数上不同，但在活性方面有很大的差别，所以在羟基上做一些修饰可能对活性产生较大的影响。

由于银杏内酯 B 的 1-OH 与 10-OH 空间相距比较近，用酮或醛可与它形成缩醛、缩酮结构。我们在浓硫酸作用下，用多聚甲醛与银杏内酯 B 反应得到化合物 **74**。反应如下：



74

在碱性条件下，卤代试剂与银杏内酯 B 反应生成 1-或 10-醚化、酯化产物。有些反应产率达 100%，选择性很好。



75 ~ 92

表 9-9　银杏内酯 B 酯化及醚化产物的体外生物活性

化合物	R_1	R_2	PAF-induced platelet aggregation $IC_{50}^{1)}$/ (μmol/L)
ginkgolide B			0.128 (0.102～0.145)
74			0.232 (0.197～0.283)
75	H	CH_3	0.571 (0.486～0.653)
76	H	CH_3OCH_2	1.68 (1.57～1.75)
77	H	$PhCH_2OCH_2$	0.0588 (0.0541～0.705)
78	H	$CH_2{=}CHCH_2$	1.09 (0.857～1.27)
79	H	$CH_3CH_2OOCCH_2$	0.0429 (0.0363～0.0497)
80	H	$PhCOCH_2$	0.121 (0.109～0.142)
81	H	p-$MeOC_6H_4COCH_2$	0.106 (0.0872～1.341)
82	H	$PhCH_2$	0.0404 (0.0336～0.512)
83	H	$PhCH(CH_3)$	1.63 (1.45～1.77)
84	H	p-$O_2NC_6H_4CH_2$	0.108 (0.0882～0.136)
85	H	p-$ClC_6H_4CH_2$	0.0289 (0.0267～0.0304)
86	H	p-$FC_6H_4CH_2$	0.0440 (0.336～0.514)
87	H	CH_3CH_2OCO	0.426 (0.407～0.472)
88	CH_3	H	0.344 (0.305～0.374)
89	CH_3OCH_2	H	0.203 (0.128～0.257)
90	$PhCH_2OCH_2$	H	0.0404 (0.0369～0.438)
91	$CH_3CH_2OOCCH_2$	H	0.213 (0.194～0.264)
92	CH_3OCH_2	CH_3OCH_2	2.06 (1.83～2.58)

1) Concentration required to inhibit PAF-induced maximum aggregation by 50%. Parentheses contain 95% confidence limits.

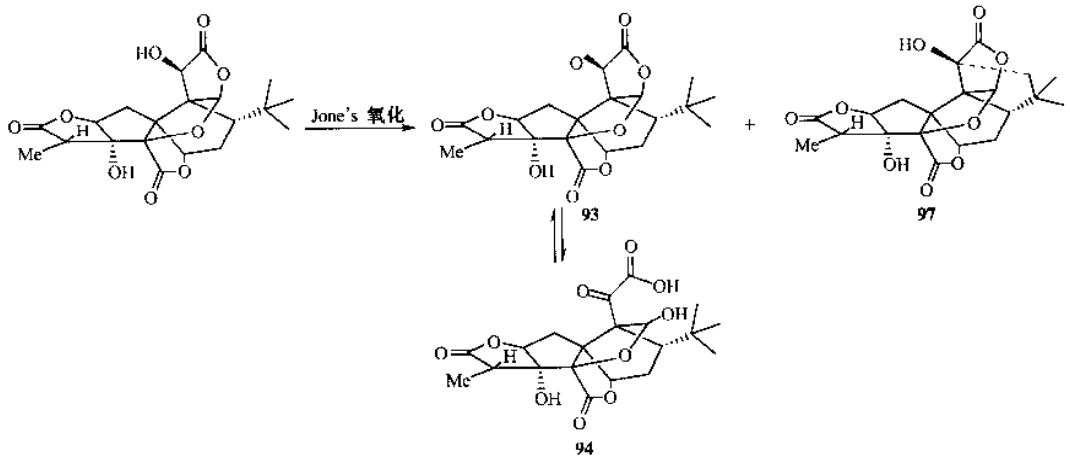
从表 9-9 的数据我们发现甲基或烷氧甲基衍生物 **74～76** 和 **78** 的拮抗 PAF 活性比银杏内酯 B 稍差一些。对含不饱和基团的衍生物 **77～86** 和 **89～90** 来说，含芳香环、羰基和烷氧羰基的衍生物的活性比含烯丙基的衍生物强。对含芳香基的衍生物来说，其苯环上的弱吸电子取代基(—Cl)比强吸电子取代基(—F，$—NO_2$)更有利于拮抗 PAF 活性。1-位和 10-位取代的衍生物活性相当。

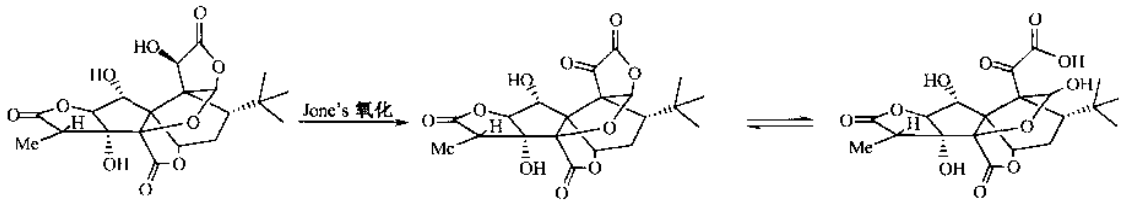
4．含氮的银杏内酯类似物的制备和拮抗 PAF 活性的构效关系

天然生物碱中大多具有很强的生物活性，并往往是药用植物的有效成分。另外，生物碱能与酸成盐，大大改善水溶性。

把羟基转换成氨基有两种方法：一是先把羟基氧化羰基，再还原氨化；另一种是亲核取代法，先活化羟基，再用胺来取代。鉴于银杏内酯中含有多个羟基，我们想从羟基上引入氮元素。

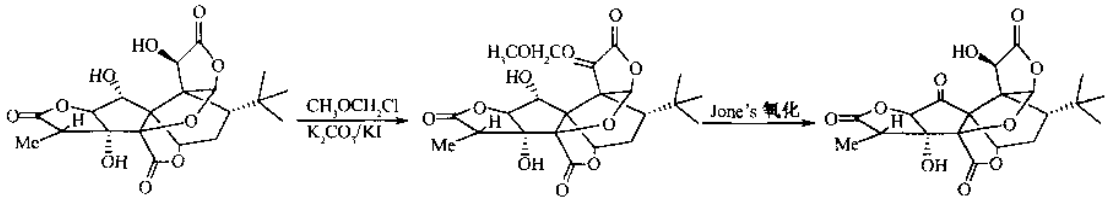
银杏内酯 A、B 采用 Jone's 氧化，产物比较复杂。采用层析法难以得到纯品，经波谱分析几个氧化产物之间存在平衡互变。由于氧化产物中环 C 含有两个邻位的羰基，五元环张力变大，易于开环，存在开环、闭环之间的平衡。**93** 和 **94** 互变，其中 **94** 所占的比例比较大；**95** 与 **96** 平衡中，**96** 所占的比例比较大。反应产物中未发现 1-OH 氧化产物，有一个七环产物 **97**，此七环产物可能是光照环合产物。





95 96

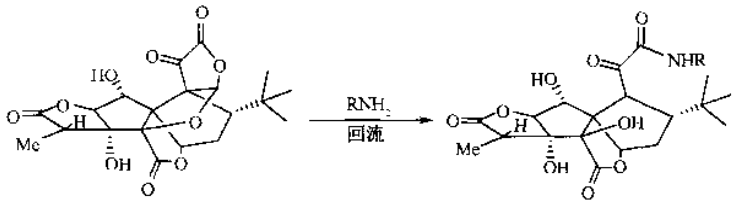
化合物 **93** 用 clemmeson 还原反应得到 100% 的 ginkgolide A，并无它的差向异构体生成。为了制备 1-OH氧化产物，我们对银杏内酯醚化产物 A3 进行氧化。PDC、PDD 和 Swern 等氧化剂都不能氧化它们，最后用 Jone's 氧化得 **98**，但产率不高。



98

我们想从氧化产物 **93** 和 **94** 的10-羰基经还原氨化引入氮元素。**93** 和 **94** 的混合物用苄胺在 THF 中回流得一主要产物。经波谱解析，非我们预想中的产物，而是一开环产物 **99**。

93 和 **94** 的混合物同样用苯胺、甲胺、氨水、吗啡啉和盐酸羟胺等反应得产物 **100～104**。



99 R=$PhCH_2$
100 R=Ph
101 R=CH_3
102 R=H
103 R=OH

104 R=NH=N⟨O⟩

表 9-10 银杏内酯 A 的氧化和酰胺化产物的体外生物活性

化合物	PAF-induced platelet aggregation $IC_{50}^{1)}$/(μmol/L)	化合物	PAF-induced platelet aggregation $IC_{50}^{1)}$/(μmol/L)
ginkgolide A	0.410 (0310～0.557)	**100**	1.56 (1.26～1.82)
93,94	0.547 (0.493～0.618)	**101**	80.8 (75.6～85.1)
95,96	1.89 (1.73～2.29)	**102**	123 (116～132)
97	0.536 (0.471～0.587)	**103**	68.2 (59.8～73.9)
98	1.00 (0.834～1.340)	**104**	7.97 (6.23～8.91)
99	65.9 (63.4～69.7)		

1) Concentration required to inhibit PAF-induced maximum aggregation by 50%. Parentheses contain 95% confidence limits.

1-OH 氧化产物 **98** 的活性比银杏内酯 B 降低 8 倍，说明 1-OH 的存在有利于活性的提高。七元环化合物 **97** 与银杏内酯 A 的活性相当。酰胺类似物的活性比母体化合物的活性降低 4 倍以上，其中酰胺类似物中酰胺的 R 取代基对活性的影响比较敏感。苯基、吗啡啉基被氢、羟基、甲基和苄基，其活性降低 70 倍。

5. 银杏内酯及其类似物的三维力场分析和量子化学研究

由于银杏内酯是刚性笼状结构，且银杏内酯类化合物在结构上的微小变化就能产生较大的生物活性改

变，故通过银杏内酯类化合物的结构和活性关系研究能探明银杏内酯的活性部位及与受体作用方式。鉴于药物与受体的作用方式是通过各种力——氢键、范德华力、静电力等。因而对银杏内酯的结构特性研究就很有意义。

我们选用文献报道的银杏内酯及其类似物 24 个利用三维力场分析方法(CoMFA)进行结构和生物活性的 QSAR 研究。CoMFA 计算结果分析：叔丁基附近有不能再加大的基团，由此推测叔丁基与 PAF 作用的疏水性口袋可能不太大。A 环附近加大基团有利于活性的提高，一般大基团，如叔丁基，为疏水性基团，这说明 PAF 受体与这一部位作用区域为疏水区。C 环羰基和羟基附近引进推电子基团有利于活性的提高，推电子基团的引进，使得 C 环上的氧的负电荷增加，因此，C 环氧原子可能通过静电相互作用或氢键相互作用与受体结合。E 环结构改造及作用模式与 C 环相似[36]。

在 CoMFA 研究得到 3D-QSAR 模型和可能的活性构象基础上，利用量子化学方法 AM1 计算了上述 24 个化合物的分子结构和电子结构并用最小二乘法(PLS)方法对量化参数和生物活性之间的关系进行定量构效关系(QSAR)研究，由此得到了银杏内酯类化合物与其作用"靶标"PAF 受体可能的相互作用模式[37]。

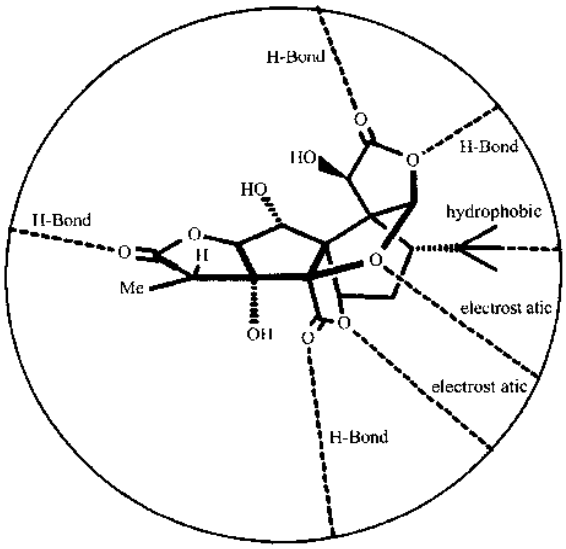


图 9-23

6. 白果内酯的化学反应

白果内酯是含 15 个碳原子的倍半萜类化合物，其结构与银杏内酯同源。母核中有 A、B、C、D 四个五元环，其中三个是五元内酯环。C 和 D 两个内酯环通过一个缩醛基稠合，致使其骨架不稳定。在骨架之外，有一叔丁基位于 B 环，这在天然产物中是罕见的。

白果内酯结构上的特殊性及其在自然界的独有性，吸引了广大化学家的注意。1987 年，E. J. Corey 研究小组首次全合成了白果内酯[38]。1989 年，E. J. Corey 再改进合成方法，完成白果内酯的对映选择性合成[39]。1992 年，M. T. Crimmins 报道了白果内酯新的全合成路线[40,41]。

白果内酯为白色块状结晶，易溶于丙酮，微溶于二氯甲烷、乙酸乙酯、甲醇等有机溶剂，难溶于水。在碱性条件下，白果内酯非常不稳定，通过缩醛稠合的 C 和 D 两个内酯环极易开环，同时还伴随 C—C 键的断裂和转移，使得碱开环后，难以用酸中和使结构复原。D 环相对稳定些，但稍强的碱性也会导致其开环和断裂。

将白果内酯溶于 10% 的 $NaHCO_3$ 水溶液中，放置 72h 后，白果内酯未发生任何变化，但若往该溶液中加入少量的丙酮，白果内酯会很快消失。由此可见，白果内酯的开环反应中，溶剂效应是一个不可忽视的重要因素。若将白果内酯溶于等当量的稀 NaOH 溶液中，白果内酯能长期稳定存在，因为这时碱的量只够让一个内酯环开环，不能同时破坏 C、D 两个内酯环，那么白果内酯的整个骨架就可以安然无恙。在酸性条件下白果内酯相对稳定些，在不是太强的有机酸如 HOAC 中可以长期稳定存在，但在强酸性如 HCl、H_2SO_4 等条

件下会进行一系列的降解反应，结构发生巨变，甚至检测不到降解的产物。

鉴于白果内酯在有机酸和有机碱的酸碱性条件下能够相对稳定的存在，所以羟基的酯化反应按传统的酸酐/吡啶方法进行。在室温下搅拌过夜，即可得 6-OH 的酯化产物。产率因酸酐的活性不同而不等，但都大于 80%，1-OH 在此类反应中从未被酯化过。在氮气保护下，加热回流条件下能得到 1,6-OH 都酯化的产物，同时还生成一开环产物。

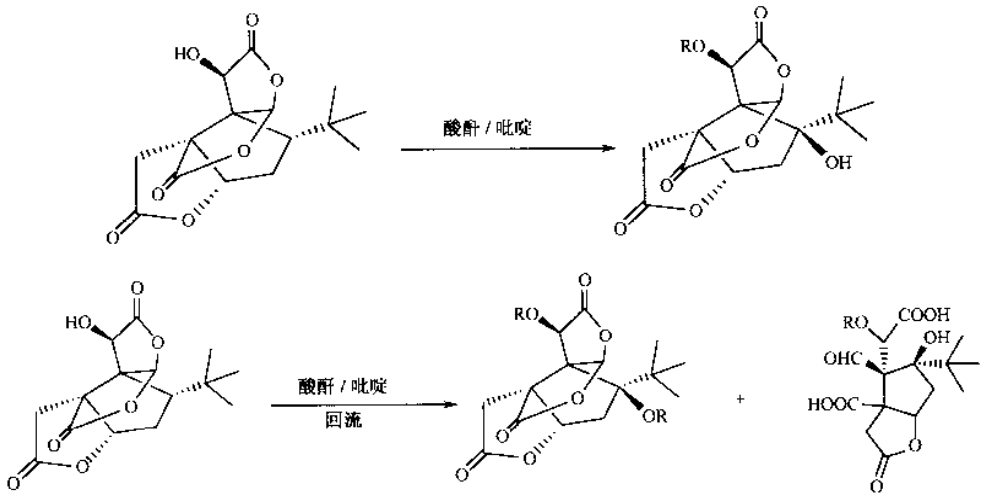


图 9-24

因白果内酯在碱性条件下不稳定(图 9-25)，所以它的醚化我们选用比较温和的中性或弱碱性条件。

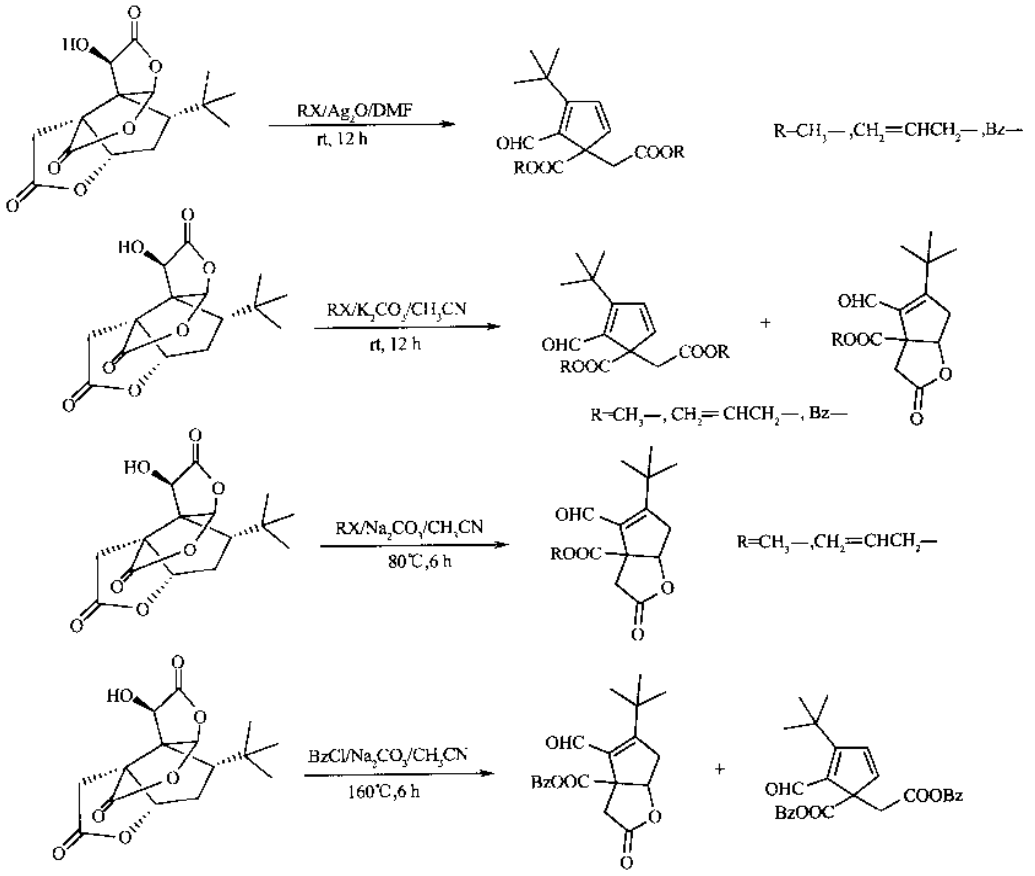


图 9-25

白果内酯在 Ag_2O、K_2CO_3 及 Na_2CO_3/160 ℃等条件下醚化生成环戊二烯产物，而在较弱的 Na_2CO_3/80 ℃条件下只生成环戊单烯内酯产物，其可能的反应机理如图 9-26 所示。白果内酯的甲醚产物最后通过与重氮甲烷反应制备如图 9-27 所示。

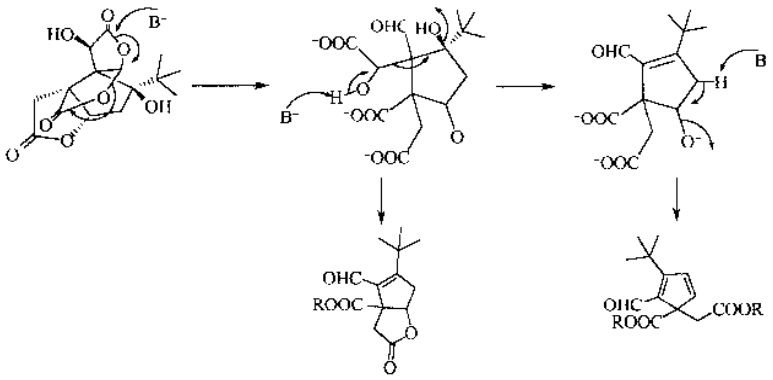


图 9-26　白果内酯在碱性条件下醚化反应的可能机制

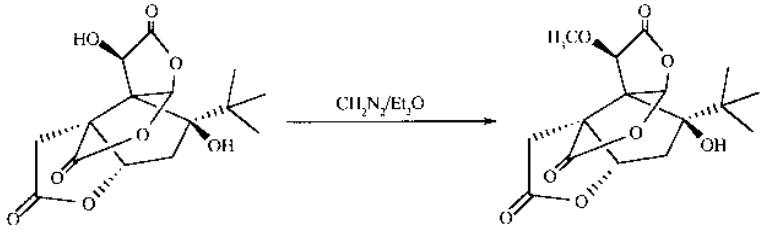


图 9-27　白果内酯的甲醚产物制备

第六节　银杏萜内酯的药理、临床研究

一、银杏内酯的药理研究

自从 20 世纪 80 年代，P. Braquet 研究小组发现银杏内酯是特异性的血小板活化因子拮抗剂后[42~45]，国内外学者对它们的药理和生理作用进行了广泛而深入的研究，已有专著出版[5]。银杏内酯在治疗哮喘、内毒素休克、器官移植排斥反应、心脑血管疾病及多种炎症等方面均有潜在作用。

体内与体外实验证实银杏内酯能完全阻止 PAF 引起的兔、鼠、猪的血小板聚集，也能抑制 PAF 引起的健康人的血小板聚集，但对 ADP 引起的聚集无影响。这些说明银杏内酯是特异性 PAF 拮抗剂。

银杏内酯能阻止心率不齐，减少梗死程度，对心脏有保护作用。口服银杏内酯对动脉样氧化和动脉高血压有潜在治疗作用。银杏内酯能阻止 PAF 导致的肺动脉收缩作用，在治疗肺哮喘方面有临床价值。

内毒素能诱导许多器官，如胃、十二指肠、肾及肺等合成和释放 PAF，此内源性 PAF 在内毒性致病中起关键作用。银杏内酯因拮抗 PAF 而对内毒素疾病（如低血压、休克）有抑制作用。

二、银杏内酯的临床研究

P. Braquet 研究小组从 1986 年开始用 BN 52063（银杏内酯 A、B、C 的混合物，质量比 2:2:1）作为 PAF 拮抗剂应用于临床试验。Bonvoisin 和 Guinot 对哮喘病人和特异反应性病人进行临床试验，结果令人振奋[46]，这是首次临床上证实银杏内酯治疗哮喘有效。另外，PAF 拮抗剂和其他拮抗剂结合使用是有利的，这

是因为有多种介质参与到哮喘病理生理学中[47]。

在 BN 52063 用于临床试验的基础上，他们又把其中活性最强的纯单体银杏内酯 B 用于临床试验。其中最有前途的是用于治疗革兰氏阴性菌感染的严重脓毒症。另外，在炎症和自身免疫方面的疾病，尤其在肾移植和多发性硬化症方面也很有治疗希望[48]。

三、白果内酯的药理研究

1985 年，德国的 William Schwabe 公司首先发现白果内酯可用于治疗神经病、脑病和脊髓病，并申请了德国专利[49]，从而揭开了对白果内酯活性研究的序幕。1993 年，意大利的 C. Bruno 等研究发现，在许多神经性疾病中，白果内酯具有营养和保护神经细胞和 Schwann's 细胞的作用[50]。1993 年，日本的 Keiji Wada 等研究了白果内酯对老鼠睡眠时间的影响，结果发现白果内酯能显著地缩短麻醉后老鼠的睡眠时间，且其活性比银杏内酯强得多[51]。1997 年，日本的 K. Sasaki 等对白果内酯的抗惊厥作用进行了研究，发现白果内酯能够减轻由 MPN(4-*O*-methylpyridoxine) 引起的惊厥反应，并对剂量和治疗时间有一定的依赖性。在用白果内酯进行治疗的老鼠中，其肝脏中 7-甲氧基香豆素的脱甲基酶的活性被增强了，注射了 MPN 的老鼠血液中 MPN 消失的速度也大大快于对照组。根据实验结果认为，白果内酯的抗惊厥(由 MPN 引起的) 作用，部分因为它激活了肝脏中药物代谢酶的活性[52]。1997 年，J. Klein 等发现，白果内酯在脑缺氧的状态下，能抑制大脑黏膜中含胆碱的磷脂水解的发生，减少了因水解而大量释放的胆碱，从而保护大脑黏膜免遭破坏，其 EC_{50}为 0.38 μmol/L[53]。

1995 年，法国的 Jean R. Rapin 等报道，白果内酯能增加血红细胞的摄糖量，并促进其转化成糖原，但并不能增加糖的生能消耗。他认为这是白果内酯在体内起药理作用的途径之一[54]。法国科学家 Dominique Janssens[8]等在研究中也发现，给缺氧状态的内皮细胞加入适量的白果内酯，可大大降低细胞中 ATP 的数量，其作用机制可能是通过增加葡萄糖的运输，防止糖解速度的降低，从而保护线立体的呼吸功能[55]。

参 考 文 献

[1] Zhongliang Chen. Pharmacentical News, 2001, 8(2): 61
[2] 中华人民共和国药典. 化学工业出版社, 2000, 1: 82, 257
[3] DeFeudis F V. Ginkgo biloba Extract: Pharmacentical Activition and Clinical Applications. Ansterdam: Elsevier, 1991
[4] 陈仲良，殷梦龙. 世界药品信息, 2001, 2(1): 39
[5] BraquetP, Praus T R. Science, 1988, 1987: 27, 37
[6] 陈仲良. 中草药, 1998, 29(增刊): 1
[7] 陈仲良. 中国药学杂志, 1996, 31(6): 326
[8] Van Beek T A, et al. J Chromatography, 1991, 543: 375
[9] Van Beek T A et al. Fitoterapia, 1998, 49(3): 195
[10] Steinke B, et al. Planta Med, 1993, 59: 155
[11] Roumestane C et al. T R Praus Science, 1987, 1: 49
[12] Corey E J et al. J Am Chem Soc, 1988, 110: 649
[13] Corey E J et al. Tetrahedron Lett, 1988, 29: 3205
[14] Corey E J et al. Tetrahedron Lett, 1988, 29(26): 3201
[15] Corey E J. Chem Soc Rev, 1988, 17: 111
[16] Frost B M et al. Tetrahedron Lett, 1989, 30(12): 1495
[17] Crimmins M T et al. Tetrahedron Lett, 1989, 30(44): 5997
[18] Crimmins M T et al. J Am Chem Soc, 1999, 121(43): 10249
[19] Crimmins M T et al. J Am Chem Soc, 2000, 122(35): 8453
[20] Nakanishi K et al. J Am Chem Soc, 1971, 93: 3546
[21] Okabe K et al. J Chem Soc C, 1967, 21: 2201
[22] Weinges K et al. Liebigs Ann Chem, 1971, 735: 100
[23] Nakanishi K. Pure Appl Chem, 1967, 14(1): 89
[24] Weinges K et al. Liebigs Ann Chem, 1991: 81

[25] Corey E J et al. Tetrahedron Lett. 1992,33(46):6955
[26] Teng B P et al. US Patent,1997,5:599,950
[27] Weinged K et al. Tetrahedron,2000,56:3173
[28] Corey E J et al. Tetrahedron Lett,1989,30(5):6959
[29] Corey E J et al. Tetrahedron Lett,1990,31(28):3995
[30] Corey E J et al. Tetrahedron Lett,1991,32(36):4623
[31] Weber M et al. Helv Chim Acta,1997,80:2352
[32] Hu L H et al. Pure Appl Chem,1999,71:1153
[33] Hu L H et al J Asia Nat Pro Res,2000,2:103
[34] Hu L H et al. Bioorg & Med Chem,2000,8:1568
[35] Hu L H et al. J Asia Nat Pro Res,2001,3:219
[36] Chen J Z et al. Bioorg & Med Chem Lett,1998,8:1292
[37] 陈建忠等．中国科学(B辑),1998,24(4):316
[38] Corey E J. J Am Chem Soc,1987,109:7534
[39] Corey E J. Tettahedron Lett,1989:3423
[40] Crimmins M T. et al. J Am Chem Soc,1992,114:5445
[41] Crimmins M T et al. J Am chem Soc,1993, 115:3146
[42] Braquet P. Drugs of the Future,1987,12:643
[43] Braquet P et al. Pharmacological Reviews,1987,39:97
[44] Hosford D et al. Prog Med Chem,Elsevier:Amsterdam,1990,27:325
[45] Koltai M et al. Advances in Phamacol,1994,28:181
[46] Bonvoisin B et al. Barcelona:J R Prons Press,1988,2:845
[47] Guinot P. Agents Actions Suppl,1987,21:239
[48] Guinot P et al. J Lipid Mediators Cell Signaling,1994,10:141
[49] Ger Offen D E,1985:3338995
[50] Bruno C et al. Planta Medica,1993,59(4):302
[51] Wada K et al. Biol Pharm Bull,1993,16(2):210
[52] Sasaki K et al. Res Commun Mol Pathol Pharmacol,1997,96(1):45
[53] Klein J et al. Brain Res,1997,755(2):347
[54] Jean R R et al. Drug Development Research,1994,31:164
[55] Janssens D et al. J Biochem Pharmacol,1995,50(7):991

（胡立宏，陈仲良）

第十章　皂　　苷

第一节　概　　述

皂苷是苷元为三萜或螺旋甾烷类化合物的一类糖苷。苷元为三萜类化合物则称为三萜皂苷，如为螺旋甾烷类化合物则称为甾体皂苷。皂苷类化合物主要分布于陆地高等植物中，其中甾体皂苷主要存在于薯蓣科、百合科和玄参科等；三萜类皂苷主要存在于五加科、豆科、远志科及葫芦科等。有许多植物的皂苷含量很高，如甘草根含有2%～12%的皂苷，皂树皮含有10%的皂苷，七叶树种子含有高达13%的七叶皂苷，薯蓣的球状根茎含有丰富的甾体皂苷，是人工合成激素的重要原料。此外，海星、海参等海洋生物也存在皂苷类化合物。皂苷根据苷元连接糖链数目的不同，可分为单糖链皂苷，双糖链皂苷及三糖链皂苷。在一些皂苷的糖链上，还通过酯键连有其他基团。

在皂苷的化学结构中，由于苷元具有不同程度的亲脂性，糖链具有较强的亲水性，使皂苷成为一种表面活性剂，用力振荡其水液可产生持久性的泡沫。一些富含皂苷的植物提取物被用于制造乳化剂、洗洁剂及发泡剂等。此外，一些皂苷对细胞膜具有破坏作用，表现出毒鱼、灭螺、溶血、杀精及细胞毒等活性。皂苷的表面活性作用受其连接糖链数目的影响，一般单糖链皂苷的溶血，灭螺作用更强，双糖链皂苷的作用稍弱。皂苷的溶血作用也与苷元有关，如以人参三醇为苷元的皂苷具有明显溶血作用，而以人参二醇为苷元的人参皂苷则具有抗溶血作用。

可用一些颜色反应对皂苷进行初步鉴定，最常用的颜色反应为 Liebermann-Burchard 反应，其方法如下：在试管中将少量样品溶于乙酸酐，再沿试管壁加入浓硫酸，如两层液体交界面呈紫红色则为阳性反应。

第二节　皂苷的提取与分离

皂苷类化合物属于水溶性化合物，且结构较为复杂。在20世纪80年代以前，皂苷类化合物的纯化和结构鉴定相对是难度较大的工作。后来，随着分离纯化所用担体的改进及高兆周二维核磁共振技术的应用，皂苷的分离及结构研究工作发生了根本性的改变。

皂苷类化合物因极性大，需用醇、水或其混合物将其提取出来。目前，在实验室进行皂苷类化学成分研究时，通常是用甲醇或工业乙醇提取，减压浓缩所得提取液，再用氯仿或乙酸乙酯与水分配，除去脂溶性成分，最后用水饱和的正丁醇与水分配，浓缩所得的正丁醇溶液即得总皂苷。某些皂苷分子中糖片段有亲脂基团取代时，也可能使皂苷溶于氯仿、乙酸乙酯等较低极性溶剂。在提取及后续的分离工作中，经常需要将含有皂苷的水溶液浓缩。皂苷类化合物的水溶液在浓缩时会产生大量泡沫，造成样品损失或污染仪器。向水液中加入少量正丁醇或无水乙醇再浓缩，可以避免泡沫的产生。另外，采用冷冻干燥设备也可避免产生上述问题。

作为一种初步的纯化方法，沉淀法以往常被用于皂苷的分离工作中。向富含皂苷的甲醇或乙醇液中倾入大量的乙醚或丙酮，可将皂苷类化合物沉淀出来。进一步利用过滤或离心的方法收集总皂苷，反复利用这种沉淀法可达到更好的效果。

除利用化合物的极性进行沉淀纯化外，也可根据一些皂苷结构中存在游离羧基的特点，调节溶液的酸碱性，使含有游离羧基的皂苷沉淀出来。例如，王其灏等报道取甘草室温干燥磨成粗粉，以适量水浸泡20 h，过滤，滤渣再用适量水浸泡20 h，过滤，合并滤液，在搅拌下缓缓滴加3.5～4mol/L硫酸调至pH为1.9，置冰箱中6 h以上，倾去上清液，沉淀以适量甲醇回流提取2次，合并提取液，滴加氨水调至pH为7.5～8，减压蒸干，得糖浆状物，趁热加入适量冰醋酸使溶解，室温静置，投入晶种，次日过滤，以少许冰醋酸洗涤，减压干燥即得甘草酸[1]。

另外，也可利用皂苷会与胆固醇形成沉淀的特性进行初步纯化。例如，在分离油茶皂苷时，将油茶饼用乙醇提取，乙醇提取液减压浓缩，残渣加乙醚脱脂，不溶物再溶于乙醇中加乙醚使其中皂苷析出，沉淀物溶于

乙醇，加胆固醇的乙醇溶液沉淀，过滤，沉淀干燥后置于索氏(Soxhlet)抽提器中用苯回流，不溶物为皂苷，苯液浓缩后可回收胆固醇。

上述沉淀法在大多数情况下通常只能获得总皂苷，为获得纯度更高的皂苷，需进一步采用色谱方法。大孔吸附树脂是一种处理能力极大的柱色谱担体，在目前皂苷类成分的研究及工业生产中获得广泛应用。

一、大孔吸附树脂色谱

大孔吸附树脂是一类由苯乙烯等小分子物质聚合而成的高分子担体，根据其结构单元不同分为各种型号。目前，国内已有适用于皂苷类天然产物分离纯化的大孔吸附树脂生产，其中如D-101型、DA-201型大孔吸附树脂等。

对新购得的大孔吸附树脂通常需用丙酮，甲醇或乙醇多次浸泡洗涤，除尽其中包含的有机杂质，然后用水充分交换即可使用。使用方法一般是将通过溶剂分配法富集的皂苷部位溶于水上样至大孔吸附树脂柱，先用水洗去糖及蛋白质等成分，然后用梯度甲醇或乙醇洗脱，可获得更为精制的总皂苷。选择合适的大孔吸附树脂，采用梯度洗脱方式还可将粗提物中的皂苷与其他苷类成分，如黄酮苷、环烯醚萜苷等分开，更有利于后续的皂苷纯化工作。

林景南报道取干燥人参花蕾1 kg，用75%乙醇温浸3次，合并提取液，减压浓缩，回收乙醇至无醇味，除去不溶物，浓缩液通过D-101型大孔树脂柱，皂苷成分吸附在树脂柱上，树脂用蒸馏水动态洗涤，除去水溶性杂质。用60%乙醇洗脱，分段收集，前2000 mL洗脱液浓缩后放置，析出大量浅黄色结晶(人参皂苷Re粗品)，滤出粗品，溶于甲醇中，加入1/4体积水，自然放置进行重结晶，得无色针晶，反复上述重结晶操作2～3次，即得到单一的人参皂苷Re纯品20 g[2]。

在用大孔吸附树脂获得较为精制的总皂苷后，为进一步获得皂苷单体，一般都还需采用其他色谱方法分离。

二、硅胶色谱

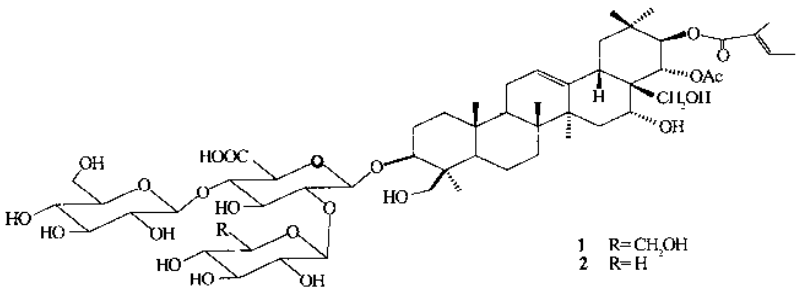
硅胶色谱作为一种传统的分离方法目前在皂苷类化学成分分离工作中仍被使用，但在皂苷结构很接近的情况下，用硅胶色谱常无法实现有效分离。另外，硅胶对皂苷这类高极性化合物的吸附作用也较大，利用硅胶色谱分离皂苷可能会导致样品的损耗，不适用于微量皂苷成分的分离。因此，硅胶色谱常被作为继大孔吸附树脂分离之后的一种初步分离手段。在用硅胶色谱分离皂苷类化合物时，经常采用氯仿-甲醇-水三元溶剂系统。在氯仿-甲醇溶剂系统中加入适量的水，可克服皂苷类化合物进行硅胶色谱时产生的脱尾现象，获得更好的分离效果。根据皂苷化合物的极性大小，溶剂系统可选择氯仿-甲醇-水7:3:0.5，3:1:0.1，4:1:0.1…。在某些情况下，如用氯仿-甲醇-水三元溶剂系统分离效果不好时，也不妨摸索其他溶剂系统，如氯仿-乙醇、乙酸乙酯-甲醇、乙酸乙酯-乙醇。

三、反相色谱

自1980年以来，反相填料在天然产物研究中获得广泛应用，这对皂苷类化合物的分离纯化推动尤为巨大。目前用于皂苷类化合物分离的反相担体主要是十八烷基键合硅胶(octadecylsilane，ODS)和辛烷基键合硅胶。在所有高压液相色谱分离工作中，约有95%使用的是十八烷基键合硅胶担体。Merck公司生产多种规格的反相填料，天津化学试剂二厂目前也开发出多种规格的键合相硅胶担体。水、甲醇、乙腈和乙醇是反相色谱中最常用的溶剂，在分离皂苷类化合物时，常用不同比例的甲醇-水、乙醇-水或乙腈-水为洗脱剂。使用乙腈-水溶剂系统时色谱柱的阻力小，常被用于高效液相色谱分离。由于乙腈较甲醇及乙醇价格更昂贵且毒性大，在初步阶段的皂苷反相色谱分离中一般不采用。与正相色谱相反，减小洗脱溶剂中水的比例可增大反相色谱中洗脱液的洗脱能力。

用反相担体分离皂苷类化合物时，同进行硅胶正相色谱时一样，也可采用减压色谱、常压色谱及加压色谱等多种分离方式。当一些皂苷类成分结构非常相近，用其他分离方法难以纯化时，可采用高压液相色谱进

行分离。从七叶树科植物天师栗(*Aesculus wilsonii*)干燥成熟果实(娑罗子)中提取得到的七叶皂苷具有抗炎、消肿、增加静脉张力等功效,已被开发用于临床。七叶总皂苷组成中存在一系列具有不同3位糖链及E环取代基团的皂苷,对这些皂苷进行有效分离具有一定难度。Apers等报道使用Waters Symmetry Shield C_8色谱柱,利用高压液相色谱装置,可一次将七叶皂苷escins Ⅰa(**1**)和Ⅱa(**2**)成功分离[3]。

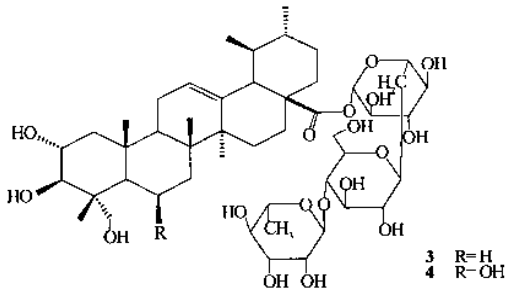


Merck公司生产的Lobar预制柱是实验室进行皂苷类化合物制备性分离的有效装置。Lobar预制柱可用于分离克数量级的样品,其分离效果有时可接近HPLC的分辨率。赵维民等利用RP-18 Lobar预制柱对植物玉叶金花(*Mussaenda pubescens*)的化学成分进行了分离,以乙醇-水、乙腈-水为洗脱剂,获得了一系列新三萜皂苷类化合物[4]。

采用高效反相薄层色谱可对反相柱色谱的分离效果进行有效检测。Merck公司生产多种规格的高效反相薄层。在对一些皂苷进行RP-18反相薄层检测时,需要展开剂中水的比例达到或超过50%,这时使用普通的反相薄层展开速度慢或难以展开。采用吸附剂中加入亲水性物质的Merck RP-18 WF254型反相薄层则可使展开剂中水的比例不受限制。

四、液液分配色谱

逆流色谱及离心分配色谱作为液液分配色谱,其优点在于不会对极性高的皂苷类化合物造成不可逆吸附。Diallo等报道采用氯仿-甲醇-异丁醇-水7:6:3:4溶剂系统,用MLCCC仪器从药用植物积雪草(*Centella asiatica*)的提取物中成功分离出积雪草苷(asiaticoside,**3**)和羟基积雪草苷(madecassoside,**4**),两个化合物之间只有一个羟基的差别。他们在分离中还设计将MLCCC仪器与薄层色谱联用,改进了高速逆流色谱分离过程中的流分检测方法[5]。



第三节 皂苷结构的研究方法

值得指出的是,在过去的十几年中,高兆周二维核磁共振技术的应用极大地改变了以往皂苷结构的研究方法,使皂苷结构鉴定更趋快速、微量化。皂苷结构的研究一般包括苷元和糖片段的结构鉴定,以及苷元与糖片段之间连接位置的确定。在一些皂苷类化合物结构中,苷元或糖片段还可与其他羧酸通过酯键连接,此时还需确定这些片段的结构及其连接位置。前人对游离三萜及甾体化合物已做过大量研究工作,目前所遇到的苷元大部分是已知化合物,其结构鉴定一般是通过与文献报道碳谱数据进行比较。本节主要介绍糖片

段的结构研究方法。糖片段的结构测定工作主要包括确定糖的种类和单元数;糖的连接位置;糖的连接顺序;糖环的大小和端基构型及糖的绝对构型。下列方法在皂苷结构研究中常被采用。

一、苷键的裂解

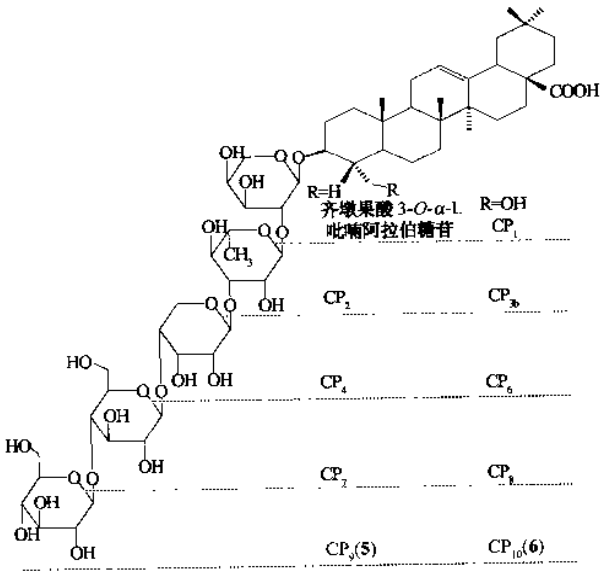
在皂苷的结构研究中,苷键的裂解占有重要的位置。通过苷键裂解反应除可获得苷元的单体及糖的信息外,还可获得次级皂苷。通过进行次级皂苷与原皂苷的比较来确定糖的连接顺序及连接位置是过去皂苷结构研究的重要手段。目前,在鉴定皂苷成分化学结构时,为节约时间及不损耗样品,核磁共振方法成为人们首选方法。通过解析核磁共振谱可以获得更多的皂苷结构信息,直至完全确定结构。尽管如此,苷键裂解反应对获得糖的绝对构型等信息仍是鉴定新皂苷结构时不可缺少的。苷键裂解的方法很多,其中以酸水解法使用最多。

1. 酸水解

苷键是缩醛结构的一部分,易为酸所水解。酸水解反应速度与糖和苷元的结构有关。一般来说,去氧糖的水解速度较快,呋喃糖比相应的吡喃糖快,五碳糖比六碳糖水解速度快。水解速度与糖在苷元上的连接位置也有关,如人参皂苷中位于苷元 C-20 的糖在 50% HOAc 溶液中即可水解下来,而位于 C-3 位的糖则要在 4mol/L HCl 或 7% H_2SO_4 溶液中加热几小时才能完全水解。

酸水解的一般方法是将皂苷溶于 HCl 或 H_2SO_4 溶液中(如不溶解可以加甲醇、乙醇等极性溶剂助溶)加热一段时间,然后减压蒸去有机溶剂,水溶液用有机溶剂萃取出皂苷元或用过滤法收集析出的皂苷元沉淀。除去皂苷元后的水溶液用碱或阴离子交换树脂中和,然后采用纸色谱、薄层色谱或气相色谱与标准品比较鉴定水解生成的单糖。

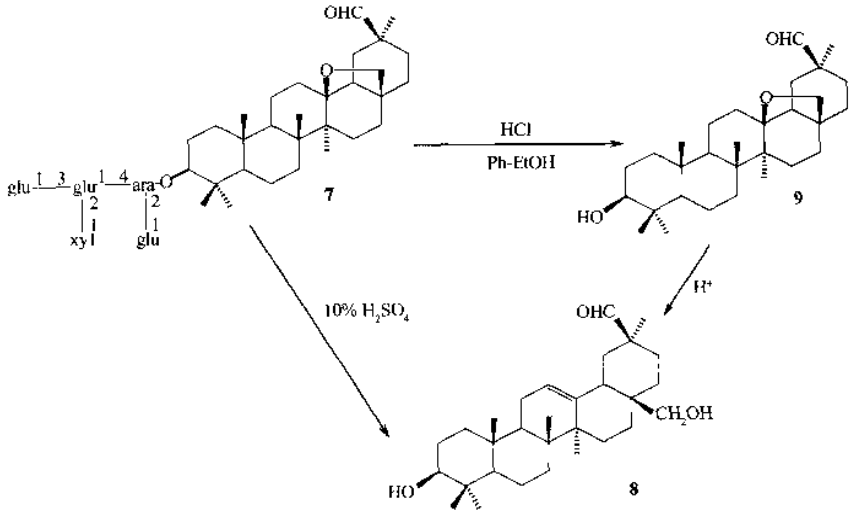
对于含有两个以上糖单元的皂苷,由于各个苷键对酸的稳定性不同,因而有可能通过改变酸的浓度或水解反应的温度和时间得到不同的次级皂苷,比较原皂苷和各次级苷中所含的糖,可以推测出糖链中糖的连接顺序。从威灵仙(*Clematis chinensis*)的根中分离得到皂苷 CP_9(**5**)和 CP_{10}(**6**),用 0.05mol/L H_2SO_4 在 75% EtOH 中回流 1 h,分别得到四个依次失去一个糖单元的次级苷,在此基础上确定了糖部分的结构[6],即



2. 二相酸水解(缓和酸水解)

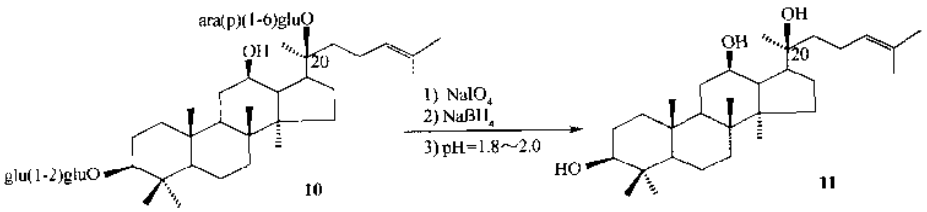
酸水解反应太剧烈时,一些皂苷元结构会发生变化,使研究工作变得复杂。二相酸水解是指在酸水解反应液中加入一有机相,如苯、甲苯等,反应过程中苷元一旦生成就转入有机相,从而避免了进一步与酸的接触,使苷元的副反应得到避免。存在于植物 *Cyclamen europaeum* 根中的西克拉明皂苷(cyclamin,**7**)的苷元在 C-13 和

C-18 之间有一氧环，用 10% H_2SO_4 水解时氧环开裂得到西克拉明苷元 D(**8**)。改用二相酸水解方法则得到西克拉明苷元 A(cyclamiretin A,**9**)，**9** 用酸处理得到 **8**，这说明 **8** 是在酸水解过程中产生的次级皂苷元[7]。



3. Smith 降解

过碘酸钠可以在不影响其他邻位双功能团的情况下选择性氧化邻二羟基。皂苷分子中含有邻二羟基的糖片段在过碘酸钠氧化下生成二醛中间体。二醛中间体用硼氢化钠还原，然后室温下酸处理即得到失去含邻二羟基糖片段的皂苷元或次级苷，该方法称为 Smith 降解[8]。Smith 降解条件很温和，许多在酸水解条件下不稳定的皂苷元都可以用 Smith 降解获得真正的苷元。人参皂苷的苷元 20(S)-原人参二醇和 20(S)-原人参三醇在酸水解时不仅侧链发生环合，C-20 构型也发生变化，但采用 Smith 降解法则可避免这些化学变化[9]。例如，人参皂苷 Rb2(ginsenoside Rb2,**10**)利用 Smith 降解可得到 20(S)-原人参二醇(**11**)。



4. 酶解

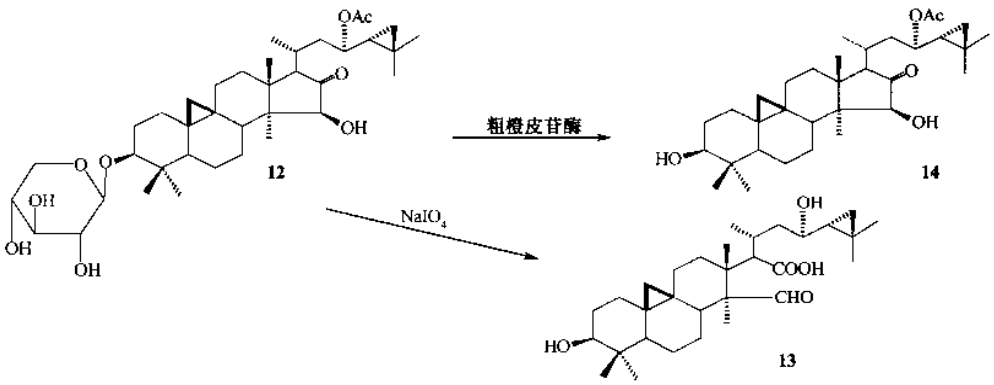
糖苷酶(glycosidase)是一类催化糖苷生物合成的酶，在合适的条件下也能催化糖苷的分解。由于酶几乎是在与生物体内相同条件下催化底物的化学反应，采用糖苷酶来裂解苷键可最大限度地减少反应过程中苷元的化学变化。酶对底物有一定的选择性，需选用合适的酶才能将糖苷键彻底水解，利用酶的这一特性可获得次级皂苷。此外，通过改变反应时间也可获得一些有用的部分水解产物。

在实际工作中难以获得纯净的酶以专一性地水解某一类苷键，通常是使用粗制的糖苷酶。常见的糖苷酶有苦杏仁酶(emulsin)、麦芽糖酶(maltase)、纤维素酶(cellulase)、高淀粉酶(takdiastase)、粗橙皮苷酶(crude hesperidase)等。

在进行皂苷酶解反应时，可将含有皂苷与糖苷酶的水液在 37℃ 条件下保温数天，根据薄层色谱检测水解反应的进行情况。水解反应完全后，可用 EtOAc 萃取水液以获得苷元，经过简单的色谱纯化，甚至不用纯化即可直接进行分析测试。萃取后的水液可用于进一步鉴定皂苷中糖的种类、比例及绝对构型等。

乙酰升麻醇木糖苷(acetyl shengmanol xyloside,**12**)是从金龟草[*Vimicifuga japonica*(Tmunb.)Sprngal]中分离得到的三萜皂苷，它对酸碱都极不稳定，在分离过程中就已部分发生分解。此外，**12** 在用 $NaIO_4$ 降解时得到的产物 **13** 也非其真正苷元。然而采用粗橙皮苷酶在 37℃ 反应 40h 则可顺利地得到 **12** 的真实苷元

(**14**)[10]。反应如下：



5. 碱水解

五环三萜皂苷中有很大一部分含有酯苷键。对于含有酯苷键的皂苷，可用碱水解方法选择性地断裂酯键，而不影响醚苷键。对于同时含有醚苷键与酯苷键的皂苷，采用碱水解方法可获得只含有醚苷键的次级皂苷，使结构研究工作简化，该法在以往缺少高兆周二维核磁共振技术的时代尤为有用。碱水解的方法通常是将皂苷在氢氧化钠的水溶液中水浴加热一段时间。反应进行的情况及反应条件的选择，如碱液的浓度、反应时间及反应温度等应由薄层色谱确定。反应条件剧烈可能会破坏结构尚未知的皂苷元的结构及导致水解下来的糖分解，从而使皂苷的结构研究变得复杂。

二、色谱法在皂苷结构研究中的应用

在研究皂苷中糖部分的结构时，色谱法对于确定糖链中糖的种类、比例及绝对构型十分有用。

1. 硅胶薄层色谱

用硅胶薄层色谱检测皂苷中糖的种类时是将水解所得糖溶液与糖的标准品进行对照。糖在硅胶薄层上展开时，容易出现拖尾现象，点样量不宜过多。用硅胶薄层检测糖时所用的展开剂可为氯仿-甲醇-水、乙酸乙酯-正丁醇-水或丙酮-正丁醇-水三元系统，也可用乙酸乙酯-甲醇-水-乙酸(13:3:3:4)四元溶剂系统。由于硅胶薄层不像层析纸一样易碳化，显色剂可以用硫酸的水或乙醇溶液或硫酸-茴香醛试剂等。孔繁华等在研究土贝母皂苷甲的结构时，将皂苷的酸水解液与糖的标准品同时在硅胶薄层上进行两次展开，发现存在鼠李糖、木糖、阿拉伯糖和葡萄糖，所用展开剂为丙酮-正丁醇-水(5:4:1)，四种糖的 R_f 值分别为 0.62、0.49、0.35 和 0.21[11]。赵萍萍等报道将一定量的糖苷溶液点在高效硅胶板上，将硅胶板置于密闭的浓盐酸中，利用氯化氢气体进行水解，水解后将糖标准品点于硅胶板相同高度，一同展开，用扫描仪得出斑点对应的面积，用外标法可计算出各种糖在糖苷中的比例。该方法简便、快速、准确，所耗样品仅为微克级[12]。

2. 气相色谱

气相色谱(GC)由于灵敏度高，又可同时进行分离、定性和定量测定，自从 20 世纪 50 年代末用于糖的结构分析以来，一直是皂苷研究的重要手段。气相色谱主要被用于皂苷中糖的种类鉴别，糖连接位置及糖绝对构型的测定。糖的极性大，难挥发，通常是将其制备成甲醚、三甲硅醚或乙酰化物等易挥发的衍生物后进行检测。由于糖的端基异构体的存在，以往通常是将全甲基化的化合物水解，经硼氢化钠还原，乙酰化，然后再进行气相色谱分析。通过与标准品对照，可确定糖的种类及糖之间的连接位置。Bettignies-Dutz 等改进了上述方法，将全甲基化的糖苷水解，不还原端基醛基，直接制成三甲基硅醚衍生物，产生的一对端基异构体在气相色谱中的峰面积成一定比例。根据其出峰时间及特定的面积比值来确定某一种糖，可以给出更可信的结果[13]。

人们以往认为天然皂苷中的糖仅以一种异构体形式，即D型或L型存在于自然界中，通常不对糖的绝对构型进行鉴定。但由于糖的另一个对映异构体也存在于某些生物体内，因此有必要确证糖的绝对构型。有两种气相色谱方法可用于鉴定糖的绝对构型：一种是将糖制备成挥发性衍生物后直接在装有手性固定相的气相色谱柱上进行分析，但由于手性色谱柱价格高，该方法应用仍不广泛；另一种方法是先将糖与手性化合物反应，制成手性衍生物，然后利用气相色谱进行分析。Hara等报道利用糖的醛基与手性化合物L-巯基丙氨酸甲酯反应，将反应产物进行乙酰化或三甲基硅醚化，然后进行气相色谱。该方法较简单，在普通的气相色谱条件下，几乎所有醛糖的对映体都可被很好地分开[14]。

三、波谱法在皂苷结构研究中的应用

1. 质谱

皂苷是一类极性大、热不稳定、难挥发的天然产物。用传统的电子轰击质谱(EIMS)难以直接测定皂苷类化合物的相对分子质量，需先将其转化成衍生物后才能获得较好的质谱图，常用的衍生化方法有甲基化、乙酰化和三甲硅醚化等。这种衍生化法仅对含糖数目较少的皂苷有效，对于含糖数目多的皂苷，即使制备成衍生物后仍得不到分子离子信号。

目前普遍采用各种软电离质谱技术来测定皂苷类化合物的相对分子质量，如场解析质谱(FDMS)、快原子轰击质谱(FABMS)、电喷雾电离质谱(ESIMS)，等等。在皂苷的这类质谱图中，当选用负离子检测方式时，可观测到$[M-1]^-$的准分子离子信号；如选用正离子检测方式，可能观察到$[M+H]^+$、$[M+Na]^+$和/或$[M+K]^+$等准分子离子信号。在用正离子检测方式测定皂苷的质谱时，有时只能观测到一个准分子离子信号，但无法确定该信号是$[M+H]^+$或其他信号，这时结合使用负离子检测方式可帮助确定皂苷的相对分子质量。根据高分辨FABMS及高分辨ESIMS等可直接获知皂苷的分子式，这有助于新皂苷的结构确证。

在皂苷的软电离质谱中，一般还可观察到一组连续失去糖单元的碎片离子信号，根据这些离子间的质量差可推测依次失去的是五碳糖(-132)、六碳糖(-162)、6-去氧糖(-146)或己糖醛酸(-176)，由此可推定皂苷结构中糖的连接顺序。

过去的十几年中，液质联用技术(LC-MS)在植物化学成分研究工作中获得广泛应用，利用LC-MS研究植物中皂苷类化合物的报道也较多[15]。初期采用的热喷雾液质联用技术(TSP LC-MS)具有一定局限性，当皂苷分子中含糖单元数超过三个时，热喷雾质谱难以给出准分子离子信号。与热喷雾液质联用技术相比，电喷雾液质联用技术(ESI LC-MS)应用范围更广，更适合于皂苷类化合物的检测，目前被普遍采用。

2. 核磁共振谱

传统的皂苷结构研究工作常需进行大量的化学工作。与其他小分子天然产物相比，皂苷的结构研究工作似乎更得益于核磁共振技术的进步。由于核磁共振法不破坏样品，使微量皂苷的结构鉴定成为可能，当样品量有限时应首选该法。下面简要介绍在测定皂苷糖链结构时常用的核磁共振方法。

(1) 1D-NMR谱

皂苷类化合物的氢谱一般是在氘代吡啶，氘代甲醇或重水中测定。随着所选用溶剂的不同，化合物中各质子的化学位移会有差异。糖的异头质子一般出现在4.3～5.9 ppm，如是酯苷键，则出现在6.0 ppm以上。异头质子的化学位移与糖的种类及连接位置有很大关系。一般α-糖苷键异头质子比相应的β-糖苷键异头质子化学位移低0.3～0.5 ppm，处于4.8～5.3 ppm，β-糖苷键的异头质子则处于4.4～4.8 ppm。异头质子由于处于较低场，大多数情况下与糖上其他质子信号分离，因此，根据异头质子信号的数目可判断皂苷中所含的糖单元数。在吡喃糖苷中，六元环一般呈固定的椅式构象，对于葡萄糖及半乳糖等，2位质子处于竖键，如异头质子为α构型，处于横键，H-1与H-2两面角约为60°，则异头质子的偶合常数为2～4 Hz。如端基质子为β构型，处于竖键，H-1与H-2两面角约为180°，则异头质子的偶合常数为7～9 Hz。因此，利用异头质子的偶合常数可确定上述两类糖的异头构型。对于甘露糖及鼠李糖，2位质子处于横键，无论端基质子为α或β构型，H-1与H-2之间的偶合常数都很小，利用异头质子的偶合常数难以区分其端基构型[16]。6-去氧糖

在氢谱中 δ 1.5～1.7 ppm 出现一双峰甲基信号，偶合常数为 6～7 Hz，这也是鉴定糖的一个重要信息。当皂苷中含糖单元数目较多时，除异头质子之外的其他连氧碳上的质子信号在 δ 3.5～4.5 ppm 之间严重重叠，仅从^{1}H-NMR 谱难以获得更多糖链结构信息。

与^{1}H-NMR 谱相比，^{13}C-NMR 信号分散在 200 ppm 的范围内，彼此重叠的可能性减小。对于氧苷，糖的异头碳信号出现在 90～112 ppm 之间，其中醚苷键在较低场，一般为大于 98 ppm；酯苷键在较高场，在 95 ppm 左右。根据此区域出现的异头碳数目，再辅以 60～85 ppm 区域糖基其他碳信号的数目，可以确定皂苷分子中糖单元数。苷类化合物中经常出现的各种单糖的碳谱数据已有很多报道。当皂苷中含糖单元的数目为一至两个时，从糖碳的化学位移可帮助判断糖的种类。另外，糖醛酸、6-去氧糖等可由碳谱获得明确的信息。根据糖中各碳的化学位移，还可确定糖环的大小。例如，对于醛糖，呋喃型较之相应的吡喃型，其 C_1，C_2，C_4 信号向低场位移 4～14 ppm，C_5 信号则一般向高场位移 4～7 ppm。吡喃糖的端基构型在碳谱中也有明确的反映，对于 β 型异构体，异头碳的$^1J_{C-H}$值一般为 160 Hz，而 α 型异构体，异头碳的$^1J_{C-H}$在 170 Hz 左右。糖的非端基碳的$^1J_{C-H}$值一般为142～148 Hz。这一特征对于鉴定呋喃糖的端基构型不适用，因其 α 和 β 异构体的异头碳$^1J_{C-H}$值都在 168～171 Hz。吡喃糖的 α 型异构体，C_1，C_2，C_3 和 C_5 的化学位移较相应的 β 异构体向高场移动 2～7 ppm，D-甘露糖与 L-鼠李糖除外，它们的 α，β 异构体的 C_1，C_2 化学位移无明显差别，但利用 C_5，C_5 化学位移的差别可以区分两者的 α，β 异构体，这一点利用^{1}H-NMR 中异头质子的偶合常数是难以区分的。

确定苷键位置是^{13}C-NMR 谱的主要功能之一。根据各糖碳信号与相应糖的甲苷间的信号差异（即苷化位移），可获知苷化位置。苷化位置的碳（C_α）一般向低场移动 4～10 ppm，C_β 则大都向高场移动 0.9～4.6 ppm，其他的碳化学位移基本不变。当糖上两个邻位羟基分别被苷化时，苷化位移的数值与正常的苷化位移会有较大差别，这时确定糖单元的连接位置需采用 NOE 或碳氢远程相关实验。

对于不对称非刚性大分子来说，同一分子中各碳原子具有不同的弛豫速度常数（$1/T_1$），该值大小不仅与该碳所连的氢数（N）有关，还受碳的运动自由度影响。处于分子外端的碳核自由度较大，弛豫时间较长，即 T_1 值较大，因此，糖链外端糖碳的 T_1 值普遍大于非链端糖，而直接与苷元相连的糖碳，T_1 值更小。由各糖的平均 NT_1 值可推测该糖在糖链中的位置，即糖的连接顺序。

^{13}C-NMR 谱用于测定糖连接位置的另一个方法是同位素位移法。当糖链中的游离 OH 被重水置换为 OD 时，与其相连的碳向高场位移 0.09～0.12 ppm。当糖中某游离 OH 被苷化时，则观察不到同位素位移，利用此法可判断糖与糖之间的连接位置[17]。

(2) 2D-NMR 谱

当皂苷含糖单元数目较多时，其一维氢谱中糖上质子信号高度重叠，有时只能辨认出异头质子、6-去氧糖中的甲基等信号。随着高兆周核磁共振仪器的发展，氢谱中糖上质子信号的分辨率获得改善，这为利用二维核磁共振技术进行糖链结构的从头解析创造了条件。

进行从头解析的第一步是要对糖链中各糖的质子信号进行归属。由于糖主要含链状的质子偶合系统，因此很适合于用^{1}H-^{1}HCOSY 谱及 TOCSY (2D HOHAHA)谱归属各组糖的信号。一般方法是从孤立的异头质子或 6-去氧糖的双峰甲基信号开始，根据一系列相关点确定糖中其他质子的化学位移。为更清晰地利用核磁共振方法确定糖链的结构，有时可先对皂苷进行全乙酰化。与乙酰氧基相连碳上的质子出现在低场，而苷化位置及其他不连游离羟基的碳上质子处于高场。一般糖上与乙酰氧基相连的次甲基质子（$\diagdown$CHOAc$\diagup$）化学位移在 δ 4.7～5.4 ppm，在 δ 3.0～4.3 ppm 之间的质子为—CH_2OAc、$\diagdown$CHOR$\diagup$ 及—CH_2OR。在这两个区间的为异头质子。酯苷键中糖的异头质子在 δ 5.5 ppm 以上。经全乙酰化后，糖上的质子信号在^{1}H-NMR 谱上分散范围变大，利用^{1}H-^{1}HCOSY 谱对糖上质子进行归属更容易，同时可得出糖之间连接位置的信息[4,18]。结合分析^{1}H-^{1}H COSY 谱及 TOCSY 谱，对于糖链质子信号的归属更为迅速、可靠。

在归属了糖中各质子的化学位移后，进一步利用碳氢相关谱（如 HETCOR、HMQC 或 HSQC 谱）可对糖中各个碳信号进行归属。通常情况是在质子信号归属之后再利用碳氢相关实验归属碳信号，但有时在归属六碳糖的六位及五碳糖的五位两质子化学位移时会遇到困难，此时不妨借助于碳氢相关实验获得这对偕质

子的化学位移信息。

在^{13}C-^{1}H远程相关图谱中，可观测到糖的异头质子与该糖单元所连接碳的相关信号及糖的异头碳与该糖单元所连碳上质子间的相关信号，根据这些信号可判断糖单元之间和糖与非糖部分的连接位置。此外，在糖单元之间也可观测到一些^{13}C-^{1}H远程相关信号，如异头质子与3位碳及5位碳之间，根据这些信号可对利用其他方法归属的糖质子及碳化学位移进行检验。

在皂苷的NOESY或ROESY谱中，可观测到糖的异头质子与其所连碳上的质子之间的NOE相关点，由此可确定糖单元的连接位置。对于中等大小的分子(分子质量1000 Da左右)，有些应出现的NOE效应在NOESY谱中看不到，采用ROESY实验可避免这种情况，许多皂苷类化合物的分子质量在1000 Da左右，如NOESY实验解决不了问题，可采用ROESY实验[19]。有时糖链与苷元中的季碳相连，无法观测到NOE及ROE信号，这时可利用^{13}C-^{1}H远程相关信号确定糖链的连接位置。

有关皂苷类化合物的波谱解析方法还可参阅本书第二章的介绍。总之，随着各种波谱技术特别是核磁共振技术的进步，以往被视为较为复杂的皂苷结构解析工作正逐步失去其挑战性，同其他许多小分子一样，皂苷的结构解析已成为十分常规的工作。

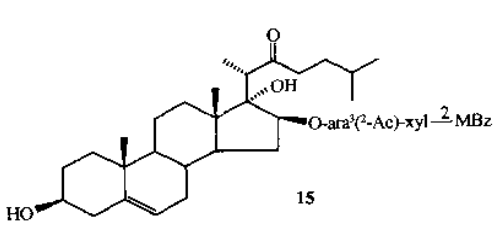
第四节 皂苷的生物活性

皂苷类化合物广泛存在于人类的食物(如大豆、燕麦)及药用植物(如人参、甘草、柴胡)中，皂苷类化合物除具有表面活性、溶血、毒鱼等特性外，还具有多种生理功能，是许多植物药的主要活性成分。皂苷的生物活性除与苷元有关外，与糖链的结构也关系密切。以前由于皂苷的分离纯化存在难度，对皂苷的构效关系研究还不多。在植物药日益受到重视的今天，人们对皂苷的生物活性研究不断深入。Rao等和俞飚最近对皂苷类化合物具有的生物活性进行了综述，这些活性主要包括抗肿瘤、免疫调节、抗炎、降胆固醇、保肝、降血糖、抗微生物、心血管活性等[20,21]。下面简要介绍皂苷的一些主要生物活性。

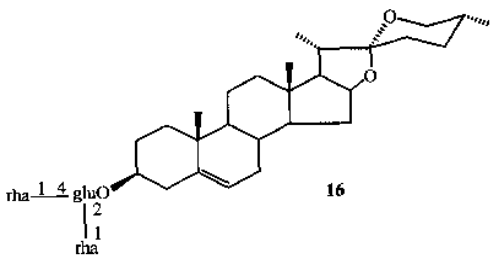
一、抗肿瘤和细胞毒作用

许多皂苷类化合物具有细胞毒和抗肿瘤作用。皂苷的细胞毒作用往往与其表面活性有关，静脉注射这类皂苷可产生严重溶血作用。

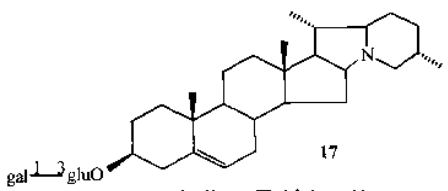
从百合科植物虎眼万年青(*Ornithogalum saundersiae*)中分离得到的甾体皂苷OSW-1(**15**)及其同系物在体外对人体细胞没有毒性，而对恶性肿瘤细胞具有极强的毒性，引起人们广泛兴趣，俞飚等首次报道了对该化合物的全合成[22]。从薯蓣科多种植物中分离得到的甾体皂苷dioscin(**16**)也具有强细胞毒作用及抗肿瘤作用[23]。此外，很多甾体生物碱皂苷也具有细胞毒作用，如solanidine的糖苷(**17**)的ED_{50}在1.0 μg/mL。



15



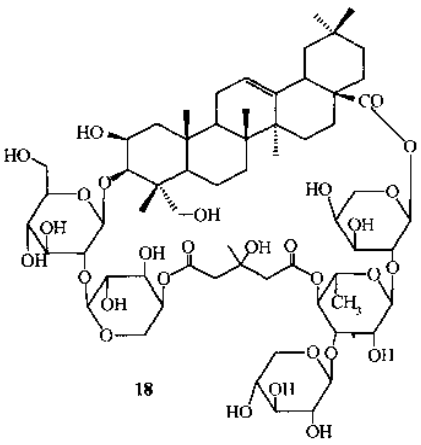
16



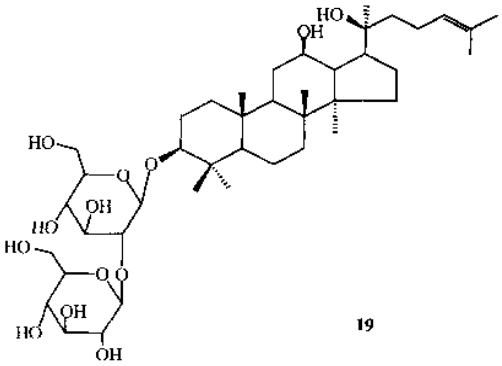
17

其他一些三萜皂苷也具有抗肿瘤作用，如从中药土贝母(*Bolbostemma paniculatum*)中分离得到的具有酯环双糖链结构的土贝母苷甲(tubeimoside Ⅰ，**18**)，从人参中分离得到的人参皂苷Rg3(**19**)……[24,25]一些

皂苷的抗肿瘤作用与其免疫促进作用有关[26]。



18

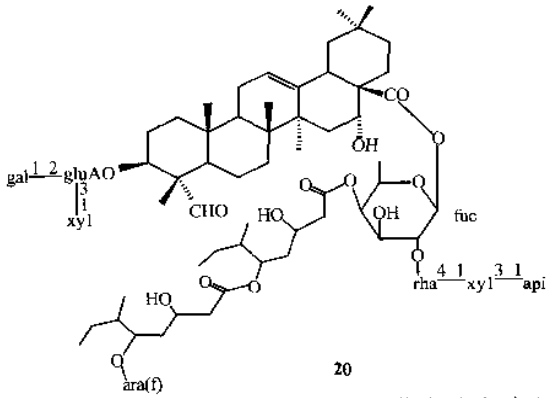


19

二、免疫调节作用

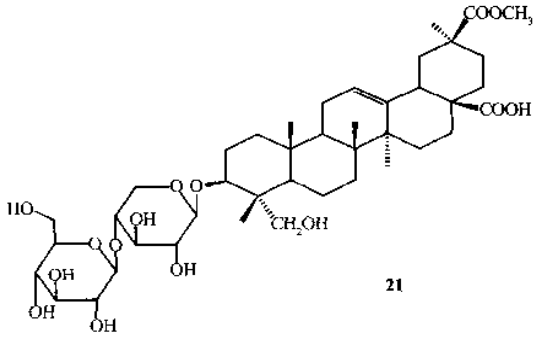
免疫系统与人体的健康关系十分密切。T细胞和B细胞是两类重要的免疫活性细胞，前者主要中介细胞免疫功能，后者主要负责抗体生成。使T细胞和B细胞增殖能力加强的药物可用于免疫功能低下的疾病，如肿瘤、艾滋病、感染性疾病及衰老等。许多皂苷具有调节人体免疫系统的功能，如著名的人参皂苷、绞股蓝皂苷等，有助于含有这些皂苷的中药发挥防病、治病功能。

一些皂苷除直接对免疫系统功能有促进作用外，还被作为免疫辅助剂用于预防及治疗性疫苗的研究开发。将抗原与皂苷结合可帮助这些大分子通过细胞膜及肠黏膜，促进其吸收，从而增加注射及口服疫苗的有效性。从南美洲植物 *Quillaia saponaria* 中获得的三萜皂苷纯品 QS-21(**20**)具有很强的免疫促进活性而无细胞毒作用，目前国外正试验将其开发为艾滋病疫苗的免疫辅助剂[27]。



20

从植物商陆(*Phytolacca esculenta* Van Houtte)中得到的三萜皂苷商陆皂苷甲(esculentoside A，**21**)具有免疫抑制功能，这可部分解释该化合物所具有的广泛且显著的抗炎作用[28]。



21

三、抗微生物作用

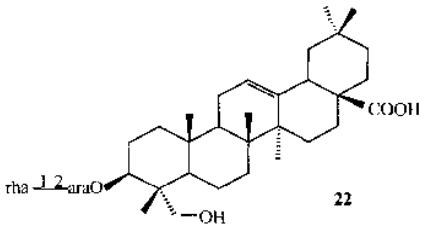
感染性疾病是危害人类和动植物的重要疾病。人们通过长期研究发现很多皂苷具有抗植物致病原体和人类致病原体的作用。

1. 抗病毒作用

柴胡皂苷能抑制多种 DNA 和 RNA 病毒，能不可逆地灭活单纯疱疹病毒，对 HIV 也有抑制作用。甘草甜素在 5μmol/L 浓度时可体外灭活麻疹病毒和疱疹病毒。从人参及西洋参茎叶中分离得到的皂苷对 HSV-1 病毒的感染有保护作用，进一步研究表明其活性成分为 Rb 系列人参皂苷，尤其是人参皂苷 Rb2[29]。

2. 抗真菌作用

文献报道的具有抗真菌作用的皂苷较多。一种关于皂苷抗真菌的机制认为皂苷与真菌浆膜中的甾醇形成一种复合物，破坏了真菌细胞膜的通透性。Takechi 等研究了植物 *Hedera rhombea* 中 α-常春藤皂苷(**22**)的结构与抗真菌及溶血活性的关系，发现结构中末端鼠李糖对抗真菌活性更重要，而结构中的游离羧基对溶血活性更重要[30]。一些皂苷由于具有抗微生物作用，还被添加于化妆品中。



22

四、心血管活性

心血管系统疾病是危害人类健康的最主要疾病之一。许多皂苷类化合物具有包括降低胆固醇、抗低压缺氧、抗心律失常、正性肌力作用及毛细血管保护作用等。在清醒家兔实验中，研究了三七皂苷对心肌缺血和再灌注损伤的作用。研究结果显示，三七皂苷对心肌缺血和再灌注损伤具有保护作用[31]。三七皂苷对急性脑缺血的作用研究表明人参皂苷 Rb1 的抗脑缺血作用与其钙拮抗有关[32]。三七中分离得到的人参三醇型皂苷对冠状动脉结扎诱发的缺血再灌注心律失常具有对抗作用[33]。黄芪皂苷能显著改善心肌收缩性，减少冠脉血流，对心肌功能具有保护作用[34]。一些薯蓣皂苷对治疗冠心病有效，可减少心绞痛，调节新陈代谢[35]。中药地奥心血康中的有效成分即为甾体皂苷。

五、抗炎、抗渗出、抗水肿作用

炎症的初期阶段往往表现为血管通透性的增加，组胺、血胺和碱性多肽的释放，并伴随充血和血肿的形成。一些皂苷具有抗渗出、抗水肿作用，也是一类抗炎物质。例如，从七叶树科植物天师栗(*Aesculus wilsonii*)干燥成熟果实(娑罗子)中提取得到的七叶皂苷具有抗炎、消肿、增加静脉张力等功效，已被用于临床，治疗脑水肿等病症。

六、其 他 作 用

除上述生物活性外，皂苷还具有多种其他活性。如降低血液胆固醇浓度；枣仁皂苷具有镇静作用；柴胡皂苷具有退热及保肝作用；辽东忽木及远志等植物中分离得到的三萜皂苷具有抑制乙醇及葡萄糖吸收作用；

甘草酸具有促肾上腺皮质激素(ACTH)样活性,临床用为抗炎药,并用于胃溃疡病的治疗;甘草皂苷及罗汉果皂苷具有甜味,被用作甜味剂添加于食品,而另外一些皂苷被发现是甜味抑制剂,可以消除蔗糖引起的人的甜味感觉,等等。

第五节 三萜皂苷

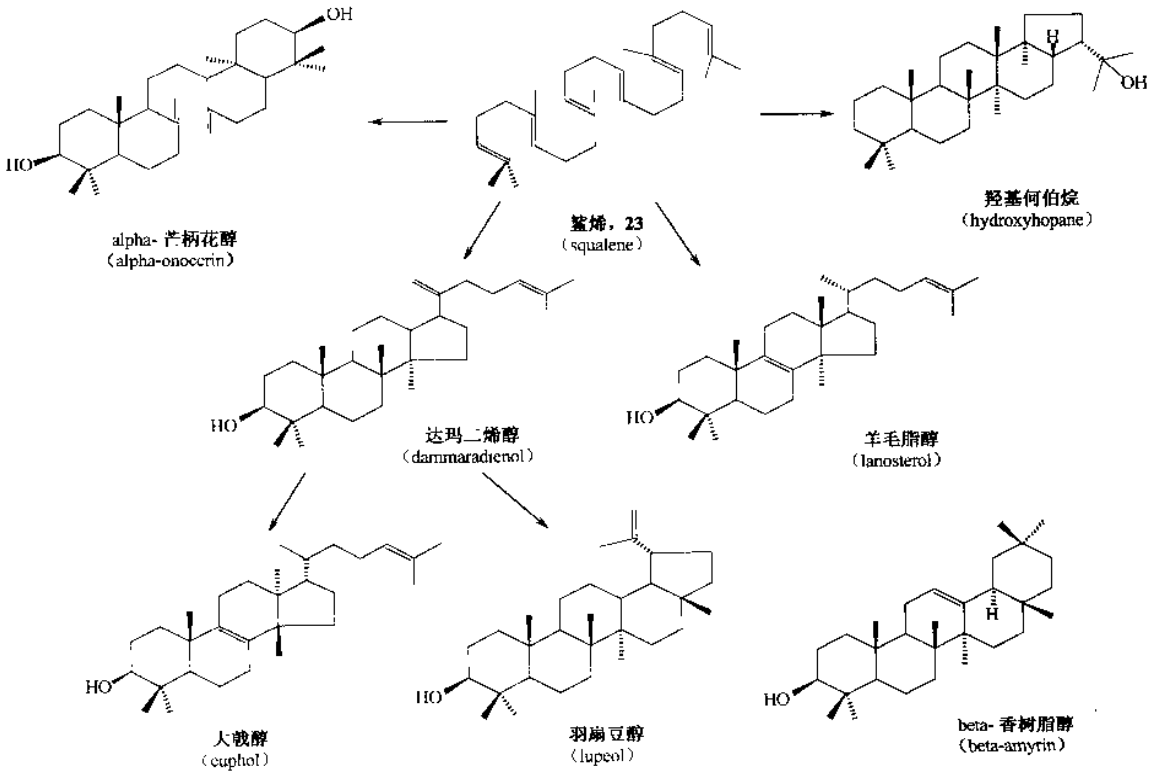
一、三萜皂苷元简介

三萜是由三十个碳原子组成的萜类化合物。三萜在生源关系上都是由鲨烯(squalene,**23**)衍生化而来。从化学结构角度看,三萜类化合物可为直链、单环、二环直至五环化合物。三萜类化合物在生物体中有以游离形式存在的,也有以醚、酯及糖苷的形式存在的。三萜糖苷因振摇后可产生持久性似肥皂液的泡沫,通称为三萜皂苷类化合物。

三萜类化合物广泛存在于植物界,单子叶植物和双子叶植物中均有分布,其中,五加科、豆科、桔梗科、玄参科等植物中三萜含量较高。三萜也存在于动物体中,如从羊毛脂中分离得到羊毛脂醇。由真菌灵芝中也曾分离出许多三萜成分。除陆地生物外,从海参、软珊瑚等海洋生物中也分离出多种类型的三萜化合物。

三萜类化合物具有多种生理活性,一些游离的三萜单体已作为药物应用于临床。例如,甘草次酸具有促肾上腺皮质激素(ACTH)样活性,临床用为抗炎药,并用于胃溃疡病的治疗;齐墩果酸具有降低转氨酶的功能,临床用于治疗急性黄疸肝炎;川楝素临床被用作驱蛔虫药。此外,近年来发现白桦酸具有抗病毒及抗肿瘤活性,正吸引人们从构效关系及作用机理等方面进行深入研究。

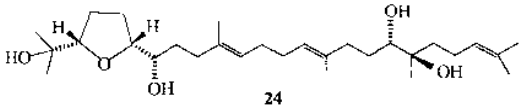
鉴于人们对三萜类化合物生物活性重视程度的提高及分离技术和波谱技术的不断进步,近十多年来,从自然界分离纯化并确定了化学结构的三萜化合物数目日益增多。天然产物研究方面的杂志 *Natural Product Report* 近年来常有关于新发现三萜化合物的综述报道[36~41]。



二、三萜的主要结构类型

1. 鲨烯类

鲨烯类成分中最经典的成分鲨烯(squalene)主要存在于鲨肝油的不皂化部分,一些植物油如橄榄油、茶籽油等中也有存在。鲨烯的直链结构被氧化及环合后可形成一系列手性中心。例如,Tinto 等从植物苦木 *Quassia multiflora* 中获得的鲨烯类衍生物 quassiol A(**24**)结构中存在五个手性中心,其平面结构通过波谱方法得到鉴定,但绝对构型未搞清[42]。Kodama 等选择性地合成了 quassiol A 的三个立体异构体,最终确定了 quassiol A 的绝对构型[43]。苷元为鲨烯类化合物的三萜糖苷类化合物尚未见报道。

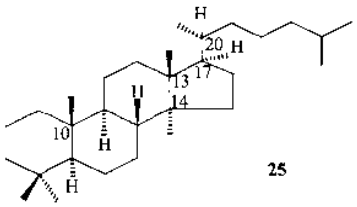


24

2. 四环三萜类

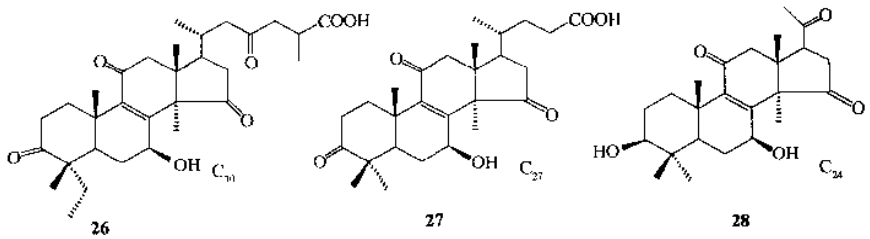
(1)羊毛甾烷型

羊毛甾烷(lanostane,**25**)型四环三萜的结构特点是 A/B、B/C、C/D 环均为反式。C-10,C-13 位均有 β-甲基,C-14 位有 α-甲基,C-17 位为 β 侧链,C-20 为 *R* 构型。



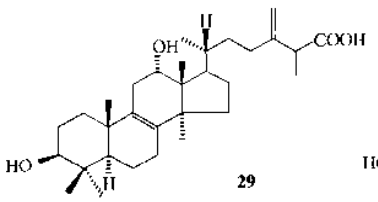
25

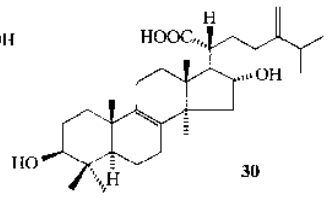
灵芝为补中益气,滋补强壮,扶正固本,延年益寿的名贵中药材,从其中分离出一百余种四环三萜类化合物,属于高度氧化的羊毛甾烷衍生物。根据这些三萜分子所含碳原子的数目,又可分为 C_{30}(如 ganoderic acid C,**26**)、C_{27}(如 lucidenic acid A,**27**)和 C_{24}(如 lucidone A,**28**)三种基本骨架[44],结构如下:

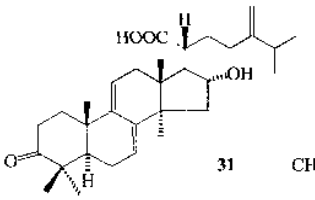


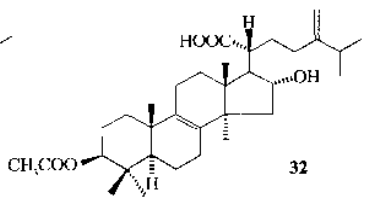
26 **27** **28**

猪苓属一些植物中存在的猪苓酸 A、B、C[polyporenic acid A(**29**)、B(**30**)、C(**31**)]和茯苓[*Poria cocos* (Schw.) Wolf]中存在的茯苓酸(**32**)是羊毛甾烷型的 31 碳三萜。

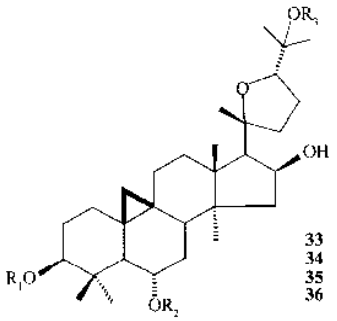








中药黄芪(*Astragalus membranaceus*)具有强壮、利尿作用,从中分出多种三萜皂苷,其苷元均为环黄芪醇(cycloastragenol,**33**),化学命名为(20*R*,24S)-3β,6α,16β,25-tetrahydroxy-20,24-epoxy-9,19-cyclolanostane。黄芪苷Ⅰ(astragaloside Ⅰ,**34**)皂苷元的3位和6位羟基分别各与一分子糖相连,糖分子上还有乙酰基取代,文献报道该化合物具有免疫促进作用[45]。黄芪苷Ⅳ(astragaloside Ⅳ,**35**)是黄芪中最重要的皂苷,黄芪苷Ⅶ(astragaloside Ⅶ,**36**)则是自然界发现的第一个三糖链三萜皂苷[46]。

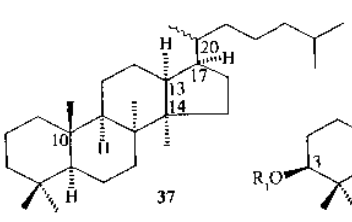


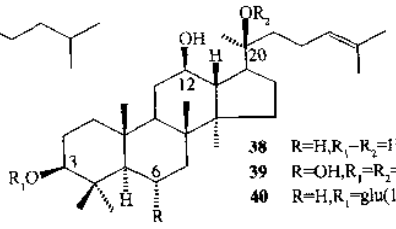
	R_1	R_2	R_3
33	H	H	H
34	xyl(2,3-diAc)	glu	H
35	xyl	H	H
36	xyl	glu	glu

(2)达玛烷型

达玛烷(dammarane,**37**)型四环三萜结构特点是C-8位有角甲基,且为β构型。此外,尚有C13βH、C10β甲基、C14α甲基,C-17位有β侧链,C20构型有*R*或*S*两种可能。

五加科著名植物药材人参(*Panax ginseng*)和三七(*P. notoginseng*)中的活性皂苷的真实皂苷元原人参二醇(**38**)和原人参三醇(**39**)均为达玛烷型四环三萜。原人参二醇和原人参三醇的结构很相似,仅后者比前者多了一个6α-OH。大部分这类人参皂苷中C20的构型为*S*,近来也分离得到C20为*R*构型的人参皂苷。具有达玛烷型苷元的皂苷在所有三萜皂苷中所占的比例仅次于齐墩果烷型三萜皂苷。在具有达玛烷型苷元的人参皂苷中,糖链可连接于3位、6位及20位,如人参皂苷Rb_1(**40**)即为在苷元的3位及20位分别连有两个葡萄糖单元构成的糖链。此外,由鼠李科植物酸枣(*Zizyphus spinosus*)的成熟种子中获得的酸枣仁皂苷也具有达玛烷型苷元。



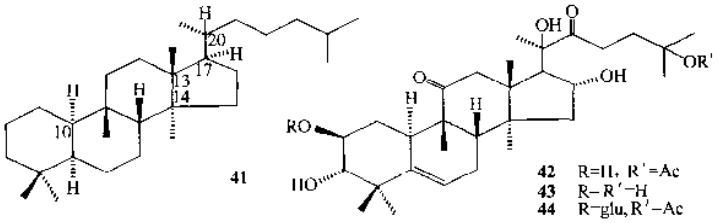


38 R=H,R_1-R_2=H
39 R=OH,R_1=R_2=H
40 R=H,R_1=glu(1-2)glu,R_2=glu(1-6)glu

(3)葫芦烷型

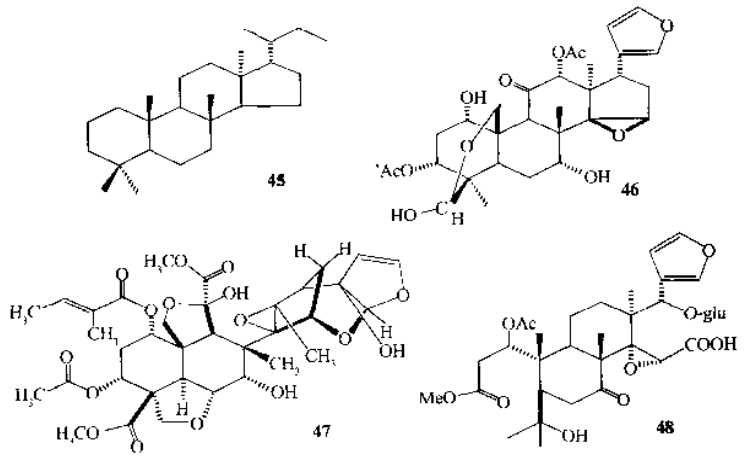
葫芦烷(cucurbitane,**41**)型三萜是一类通常具有苦味及高氧化程度的四环三萜。葫芦烷型三萜 A/B 环上的取代和羊毛甾烷型不同,有 C8β H、C9β CH_3、C10α H,其余与羊毛甾烷一样。

葫芦烷型三萜主要存在于葫芦科植物,该类型三萜具有广泛的生物活性,主要包括细胞毒、抗肿瘤、保肝及抗炎等活性。由葫芦科雪胆属植物(*Hemsleya amabilis*)的根中分出雪胆甲素和乙素[cucurbitacin Ⅱa(**42**)和Ⅱb(**43**)],临床试用于治疗急性痢疾、肺结核、慢性气管炎,均取得较好疗效。葫芦烷型三萜在植物中主要以糖苷的形式存在,如芮和恺等报道从贵州产圆果雪胆(*Hemsleya amabilis* Diels)中获得一种新的苦味质——雪胆甲素苷(**44**)[47]。若植物中存在 β-葡萄糖酶,葫芦烷型三萜皂苷则难以原来形式分离得到。



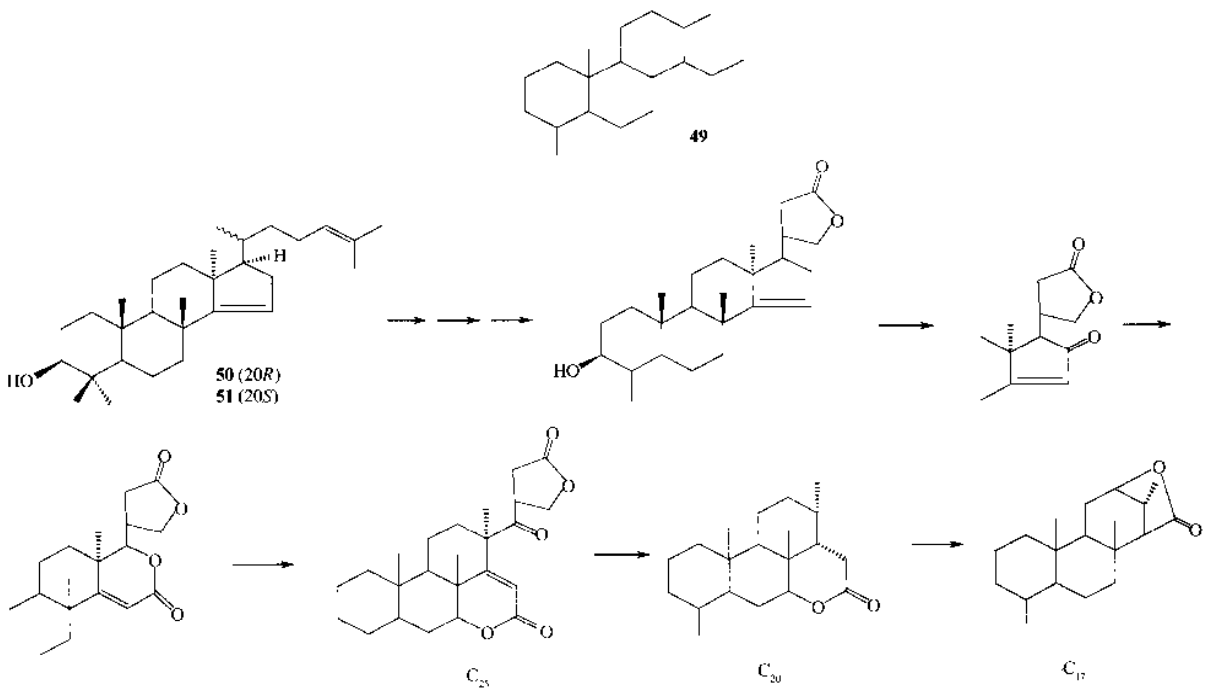
(4)苦楝素型

苦楝素(meliacane,**45**)型三萜化合物结构骨架由 26 个碳构成,又称四去甲三萜(tetranortriterpenoid)。苦楝素型三萜化合物大量存在于楝科楝属植物中,具有苦味及昆虫拒食作用,苦楝果实提取物作昆虫拒食剂已商品化。从楝科植物川楝(*Melia toosendan*)的果实、根皮、树皮等部位获得的川楝素(toosendanin,**46**)被用作驱蛔虫药,有效率在 90% 以上。从印楝(*Azadirachta indica*)种子中分离得到的印楝素(azadirachtin,**47**)具有极强的昆虫拒食作用,昆虫蜕皮及生长抑制作用。以印楝素为主要活性成分的印楝果实提取物已被开发成抵御昆虫侵害的农药。该化合物的结构最初曾被误定,后经 W. Kraus 等修正了其结构[48]。苦楝素型三萜化合物骨架氧化程度高,许多结构较复杂,需利用单晶 X 射线衍射获得确定。Sawabe 等报道从植物 *Citrus unshiu* 的果皮中分离得到一些苦楝素型三萜糖苷,如 methyl nomilinate 17-*O*-β-D-glucopyranoside (**48**)[49]。

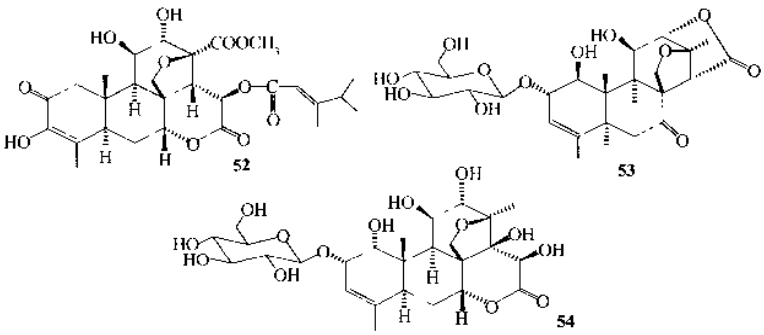


(5)苦木苦素型

苦木苦素(quassinane,**49**)型化合物的基本骨架为苦木烷,分子结构中具有 20 个碳。以往认为该类成分属于二萜类化合物,现认为该类化合物是由阿朴大戟醇(**50**)或其差向异构体阿朴甘遂醇(**51**)按下列途径形成三种分别具有 25 个碳,20 个碳和 19 个碳的不同碳架,大多数苦木苦素类化合物具有 20 个碳的苦木烷骨架。



张金生等曾从中药鸦胆子(*Brucea javanica*)中分离出许多该类成分[50,51]。从鸦胆子中获得的鸦胆亭(bruceantin,**52**)等成分具有显著抗癌活性,但由于该类化合物毒性大,限制了其临床应用。对苦木苦素类化合物的全合成研究也有很多报道[52,53]。具有苦木苦素骨架的糖苷有从印度尼西亚植物 *Quassia indica* 分离得到的 C_{19}苦木苦素糖苷 2-*O*-glucosylsamaderine(**53**)[54]及从鸦胆子(*Brucea javanica*)中分离得到的鸦胆子素 E 2-*O*-*β*-*D*-葡萄糖苷(**54**)[51]。

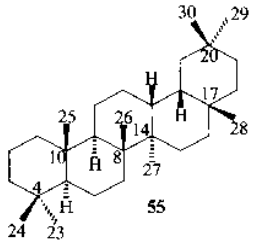


3. 五环三萜类

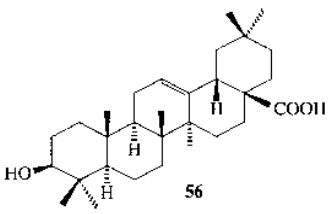
(1)齐墩果烷型

齐墩果烷(oleanane,**55**)型三萜又称 *β*-香树脂烷(*β*-amyrin)型三萜。结构中五个环皆为六元环,A/B、B/C 和 C/D 环为反式排列,D/E 环为顺式排列。八个甲基分别取代在 C-4、C-4、C-8、C-10、C-14、C-17、C-20 和 C-20,该类三萜在植物界分布十分广泛。

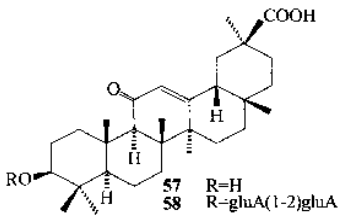
游离的齐墩果酸(oleanolic acid,**56**)广泛存在于木犀科齐墩果(*Olea europaea*),女贞(*Ligustrum lucidum*)等植物中,具有降转氨酶作用,临床用于治疗急性黄疸型肝炎。豆科植物甘草(*Glycyrrhiza uralensis*)中存在的甘草次酸(glycyrrhetinic acid,**57**)及甘草酸(glycyrrhizic acid,**58**)也具有齐墩果烷骨架,两者都有促肾上皮质激素(ACTH)样生物活性,临床用于抗炎药。同植物中存在的乌拉尔甘草次酸(uralenic acid)结构中 D/E 环为反式,即 18-*α* 甘草次酸,则没有 ACTH 样生物活性。



55



56



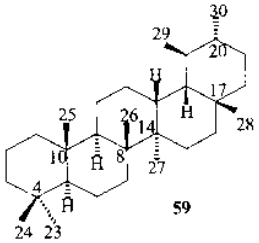
57 R=H
58 R=gluA(1-2)gluA

具有齐墩果烷型苷元的皂苷是最为常见的一类三萜皂苷，有很大一部分苷元都具有 3 位羟基，$\Delta^{12,13}$双键和 28 位羧基取代。此外，一些苷元还在 2 位、16 位、23 位、24 位等位置有氧取代。该类三萜皂苷的糖链一般连接在 3 位羟基及 28 位羧基。在中药柴胡、楮木、牛膝、远志等植物中存在大量以齐墩果酸为苷元的三萜皂苷。

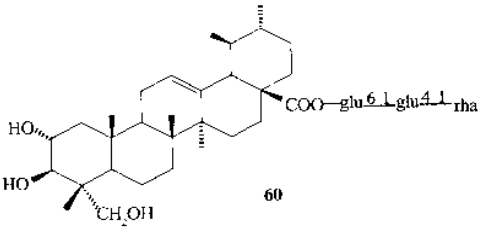
(2)乌索烷型

乌索烷(ursane,**59**)型三萜又称 α-香树脂烷(α-amyrin)型三萜。同齐墩果烷型三萜一样，结构中五个环皆为六元环，A/B、B/C 和 C/D 环为反式排列，D/E 环为顺式排列。八个甲基分别取代在 C-4、C-4、C-8、C-10、C-14、C-17、C-19 和 C-20。

具有乌索烷型骨架的游离三萜及三萜糖苷在植物中存在也较普遍。该类皂苷中的糖链一般也都是通过苷元的 3 位羟基及 28 位羧基与苷元相连。植物积雪草(*Centella asiatica*)中存在含量较高的积雪草苷(asiaticoside,**60**)，该化合物是积雪草的主要有效成分，具有促进伤口愈合等作用。



59

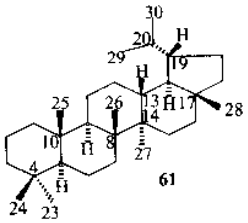


60

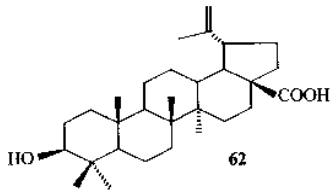
(3)羽扇豆烷型

羽扇豆烷(lupane,**61**)型三萜结构中 E 环为五元碳环，且在 E 环 C19 位有异丙基以 α 构型取代，A/B、B/C、C/D 及 D/E 环皆为反式排列。

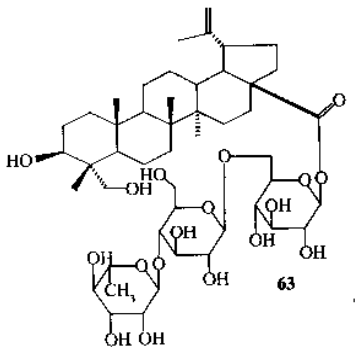
三萜化合物白桦脂酸(betulinic acid,**62**)具有羽扇豆烷骨架，存在于桦树皮、石榴树皮及叶、酸枣仁和天门冬等植物中，该化合物具有抗 HIV 作用[55]，且对肿瘤细胞具有选择性的细胞毒作用[56]。叶文才等从中药白头翁(*Pulsatilla chinensis*)中分离得到一苷元为羽扇豆烷骨架的三萜皂苷 pulsatilloside C(**63**)[57]。



61



62

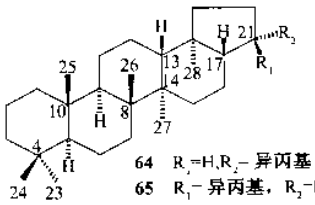


63

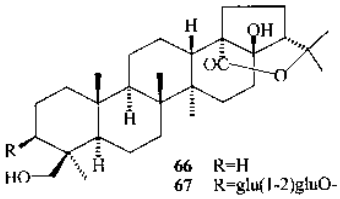
(4)何伯烷型和异何伯烷型

何伯烷(hopane,**64**)型和异何伯烷(isohopane,**65**)型三萜结构中 E 环为五元碳环，且在 E 环 C21 位有异

丙基取代，A/B、B/C、C/D 及 D/E 环皆为反式排列。何伯烷型和异何伯烷型三萜结构差别在于 C21 位异丙基的构型不同，前者为 α 构型，后者为 β 构型。Tanaka 等和 Inatomi 等分别报道从蕨类植物 *Diplazium subsinuatum* 中分离得到具有何伯烷型骨架的三萜内酯 17，24-dihydroxyhopan-28，22-olide（**66**）及三萜糖苷 diplazioside Ⅵ（**67**）[58,59]。



64 R_1=H，R_2- 异丙基
65 R_1- 异丙基，R_2-H



66 R=H
67 R=glu(1-2)gluO-

三、三萜的波谱解析

1. 紫外光谱

大多数三萜类化合物结构中不具有共轭结构，紫外光谱不显示强的特征吸收峰。苦楝素类化合物结构中的呋喃环和一些三萜化合物结构中存在的 α，β-不饱和羰基等官能团在紫外光谱中会产生特征吸收峰。在鉴定三萜化合物的结构时，如分子中存在两个或两个以上不饱和基团，可利用紫外光谱帮助确定这些基团是否处于共轭位置。

2. 红外光谱

根据一些三萜类化合物在红外光谱区域 A（1355～1392 cm^{-1}）和区域 B（1245～1330 cm^{-1}）的碳氢吸收可区别齐墩果烷型、乌索烷型和四环三萜。齐墩果烷型三萜在区域 A 有两个峰（1392～1379 cm^{-1}、1370～1355 cm^{-1}）；区域 B 有三个峰（1330～1315 cm^{-1}、1306～1299 cm^{-1}、1269～1250 cm^{-1}）。乌索烷型三萜在区域 A 有三个峰（1392～1386 cm^{-1}、1383～1370 cm^{-1}、1364～1359 cm^{-1}）；区域 B 也有三个峰（1312～1308 cm^{-1}、1276～1270 cm^{-1}、1250～1245 cm^{-1}）。四环三萜的区域 A 和 B 都只有一个峰。

3. 质谱

在 EI 质谱中，五环三萜类化合物的质谱裂解具有一定规律。当分子中存在环内双键时，一般都有较特征的 RDA 裂解；如无环内双键时，常从 C 环处断裂为两个碎片；在有些情况下，可以同时产生 RDA 断裂和 C 环断裂。根据以上规律分析所产生碎片的质量数可帮助判断取代基所在的部位。四环三萜类化合物的裂解特征是先失去边链。

4. 核磁共振谱

自 20 世纪 80 年代，高兆周核磁共振仪器及二维核磁共振谱在天然产物研究中获得普遍应用。利用这些仪器和技术，人们已能对三萜结构中的每个氢及碳信号进行从头归属，这不仅确保了结构鉴定的准确性，还大大提高了结构鉴定速度。

三萜类化合物氢谱中容易辨别的信号有甲基质子信号，双键质子信号及连氧碳上的质子信号等。齐墩果烷型三萜氢谱中的甲基信号皆为单峰；乌索烷型三萜、四环三萜氢谱中常可观察到双峰甲基信号；羽扇豆烯型三萜的 C30 烯丙甲基一般位于 δ 1.63～1.80 ppm，且呈宽的单峰。三萜环内双键质子的 δ 值一般大于 5 ppm，如齐墩果酸和乌索酸类的 C12 双键质子在 δ 4.93～5.50 ppm。环外双键质子的化学位移一般小于 5 ppm，如羽扇豆烯和何伯烯型的 C29 位两个同碳烯氢信号出现在 δ 4.30～5.00 ppm。对于大多数四环及五环三萜类化合物，C3 位有羟基取代，因 C4 一般为季碳，如 C2 位无取代基团时，H3 表现为 dd 峰。根据 C3 位质子的偶合常数可判断 C3 位羟基的相对构型。对于甾体类化合物，C3 位也常有羟基取代，但因其结构中 C4 位两个氢也与 H3 有偶合，使 H3 在氢谱中表现为 dddd 峰，由此常可容易地将三萜与甾体化合物区分。

与核磁共振氢谱相比，核磁共振碳谱信号分布在更广泛的范围，信号重叠程度大大降低。虽然利用现代二维核磁共振技术已能将三萜化合物结构中每个氢及碳信号进行完全归属，将所获得化合物的碳谱数据与已知化合物碳谱数据进行比较，仍是解析三萜化合物结构的一个快速、简便的工具。Mahato 等归纳了 396 个具有各类骨架的五环三萜化合物的碳谱数据[60]。Kalinovskii 和 Agrawal 分别对齐墩果烷型三萜的碳谱数据进行了整理[61,62]，Ageta 和 Chakravarty 报道了一些准确归属的何伯烷的碳谱数据[63,64]。左国营等综述了碳谱化学位移在达玛烷型三萜皂苷元结构研究中的应用[65]。上述大量有关碳谱数据的整理对鉴定三萜结构十分有益，限于篇幅，不再罗列。

四、研究实例

1. 土贝母皂苷的分离与结构研究[24, 66]

葫芦科植物假贝母[*Bolbostemma paniculatum* (Maxim) Franquet]的鳞茎土贝母，民间用于消肿解毒，它含有多种皂苷成分，其主要成分土贝母苷甲(**68**)对肿瘤有一定的抑制作用。它的分离是先用常规的方法得到总皂苷，然后对总皂苷用正相硅胶、反相硅胶反复色谱分离得到，同时还得到土贝母苷乙(**69**)、苷丙(**70**)、苷丁(**71**)和腺苷，分离流程见图 10-1。

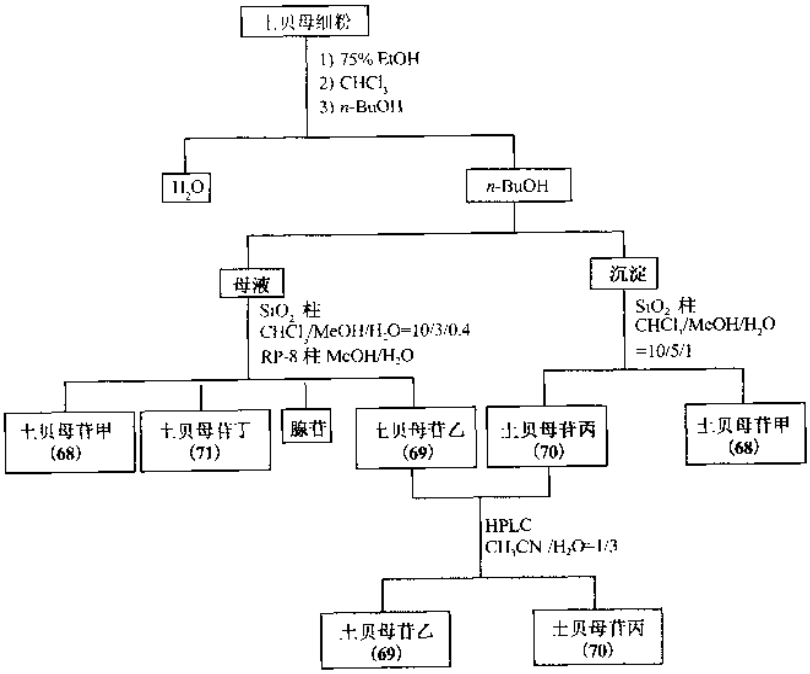
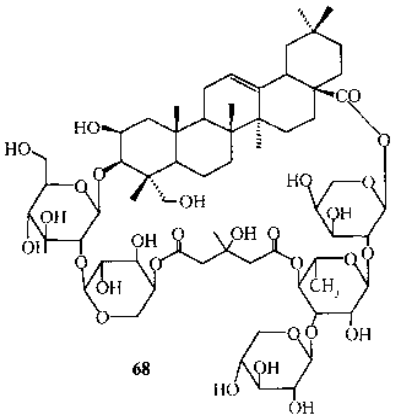
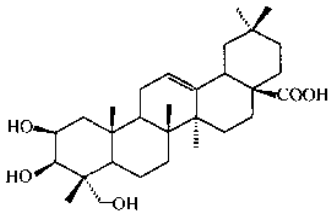


图 10-1 土贝母皂苷的分离流程图

土贝母苷甲(**68**)是一个结构独特的环状三萜皂苷，用酸水解释放出皂苷元 bayogenin(**72**)和葡萄糖、鼠李糖、木糖及阿拉伯糖，四种糖的物质的量比为 1∶1∶1∶2。**68** 的 SIMS 显示出两个准分子离子 1341 $[M+Na]^+$、1319 $[M+H]^+$和一个失去五碳糖的碎片离子 1187 $[M+H-132]^+$，提示 **68** 的相对分子质量为 1318，且有一末端五碳糖。^{13}C-NMR 显示有 3 个酯羰基 δ 175.9、171.2 和 171.1，5 个糖端基碳 δ 106.4、104.4、103.5、100.6 和 94.1 存在。δ 175.9 和 94.1 两个碳信号表明在苷元的 C-28 位羧基上连有糖基。**68** 的 NMR 信号(^{1}H-NMR δ 2.03，3H，s；3.46 和 3.05 各 1H，Abq J = 15.8 Hz；3.31 和 3.07，各 1H，Abq J = 15.6 Hz；^{13}C-NMR δ 171.2、171.1、70.1、47.0、46.8 和 26.3)表明结构中存在 3-甲基-3-羟基戊二酸残基(**73**)。

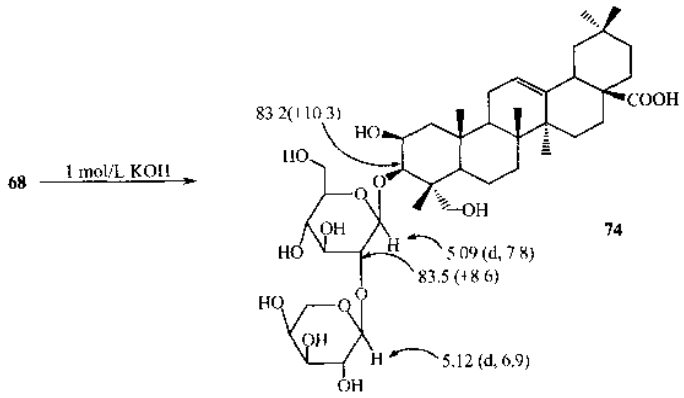


68

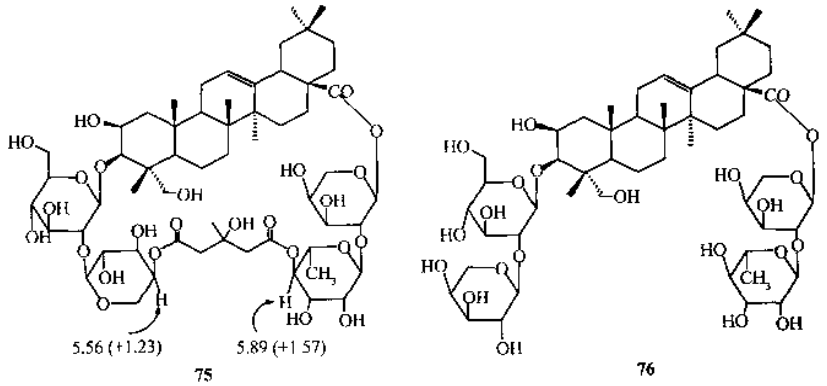


72

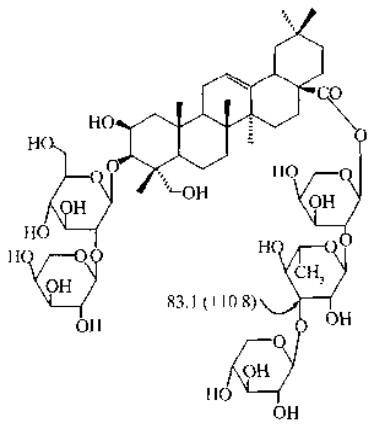
68 用 1 mol/L KOH 水解得到二糖苷 **74**，在 **74** 的 ^{13}C-NMR 中，葡萄糖 C-2 和苷元 C-3 分别向低场位移了 8.7 ppm(从 δ 74.9～83.6)和 10.3 ppm(从 δ 72.9～83.2)，提示了糖的连接位置。两个糖的端基质子偶合常数分别为 7.7 Hz 和 6.9 Hz，由此推定葡萄糖为 β 构型，阿拉伯糖为 α 构型。



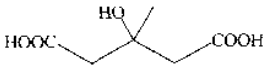
68 用纤维素酶水解去掉木糖得到化合物 **75**，**75** 进一步用 5% K_2CO_3 脱酰基得到化合物**76**。化合物 **76** 羧基上两个糖的 ^{13}C-NMR 值与已知化合物乙酰齐墩果酸 28-*O*-α-L-吡喃鼠李糖(1→2)-α-L-吡喃阿拉伯糖酯糖部分的 ^{13}C-NMR 值几乎完全一样，由此确定了化合物 **76** 的结构[67]。



用 5% K_2CO_3 或 0.5% KOH 在室温下水解 **68**，得到化合物 **73** 和 **77**。化合物 **77** 与 **76** 的 ^{13}C-NMR 相比，鼠李糖 C-3 向低场位移了 10.8 ppm，这说明木糖是连接在鼠李糖的 C-3 羟基上。其端基构型根据端基质子的偶合常数值 7.6 Hz 应为 β。



77



73

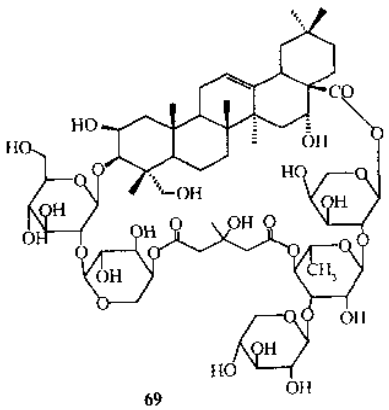
化合物 **76** 的^{1}H-NMR 与化合物 **75** 相比，δ 5.89(t，J = 9.8)和 5.56(brs)两个质子从低场区消失，说明它们是两个酰化质子。采用^{1}H-^{1}H COSY 谱归属化合物 **75** 和 **76** 的质子化学位移(表 10-1)，表明这两个质子(δ 5.89 和 δ 5.56)分别为鼠李糖的 H-4 和末端阿拉伯糖的 H-4，因此 3-甲基-3-羟基戊二酸(**73**)的两端各连接在鼠李糖和末端阿拉伯糖的 O-4 位。综合上述证据得出土贝母苷甲的完整结构如 **68** 式所示。

表 10-1 化合物 75 和 76 糖部分质子化学位移(溶剂：C_5D_5N)

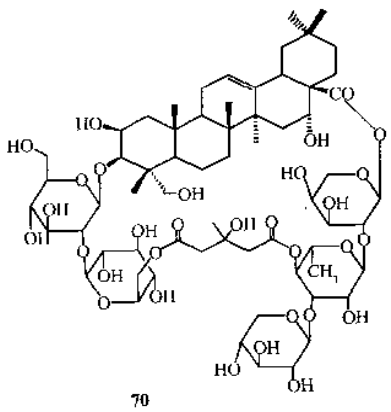
末端阿拉伯糖			葡萄糖			鼠李糖			内端阿拉伯糖		
75	**76**	Δ	**75**	**76**	Δ	**75**	**76**	Δ	**75**	**76**	Δ
1 5.52	5.16	+0.36	1 5.03	5.14	−0.11	1 6.10	5.86	+0.24	1 6.17	6.52	−0.35
2 4.42	4.58	−0.16	2 4.27	4.02	+0.25	2 4.73	4.62	+0.11	2 4.67	4.62	+0.05
3 4.25	4.19	+0.06	3 4.20	4.16	+0.04	3 4.53	4.54	−0.01	3 4.57	4.52	+0.05
4 5.56	4.33	+1.23	4 4.13	4.14	−0.01	4 5.89	4.32	+1.57	4 4.37	4.46	−0.09
5 4.15	4.45	−0.30	5 3.80	3.79	+0.01	5 4.30	4.47	−0.17	5 4.42	4.51	−0.09
3.64	3.77	−0.13	6 4.44	4.45	−0.01	6 1.54	1.74	−0.20	3.97	3.96	+0.01
			4.28	4.27	+0.01						

土贝母苷甲(**68**)和次皂苷(**75**)由于分子中存在大环结构，影响了糖上部分碳的化学位移，因而难以通过与相应的去酰基化合物 **77** 和 **76** 的比较来归属碳信号，它们的^{13}C-NMR 最后是用^{13}C-^{1}H 相关谱方法归属。

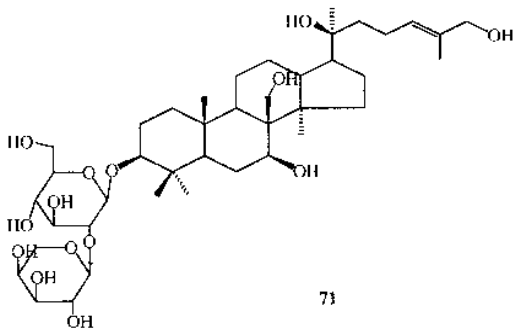
土贝母苷乙(**69**)、苷丙(**70**)和苷丁(**71**)的结构采用与土贝母苷甲结构研究类似的方法，通过光谱分析结合化学降解确定，**69** 和 **70** 的结构与 **68** 相似，分子中有一大环。**71** 是一个四环三萜皂苷，它们的结构如下：



69



70



71

2．皂荚皂苷(gleditsioside A,78)的结构研究[68]

猪牙皂为豆科植物皂荚(*Gleditschia sinensis* Lam.)衰老或受伤害后所结之果实，具有通窍、涤痰、搜风及杀虫等功效。Zhang 等对猪牙皂中所含皂苷成分进行了系统研究，得到一系列具有齐墩果烷型皂苷元的三萜皂苷[68~71]。这些皂苷的特点为含糖单元数较多，且糖单元上还通过酯键连有侧链。下面以从猪牙皂中获得的三萜皂苷(gleditsioside A,**78**)为例，说明近期应用光谱学等技术来鉴定皂苷结构的方法。

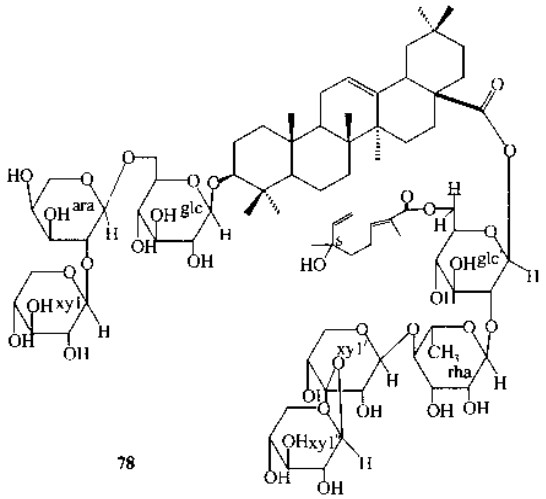
gleditsioside A(**78**)为无定形固体，根据 NMR 数据及正离子 MALDI-TOF MS 中 m/z 1643 $[M+Na]^+$、m/z 1659$[M+K]^+$及负离子高分辨 FAB MS 中 m/z 1619.7960 $[M-H]^-$准分子离子信号，确定其分子式为 $C_{78}H_{124}O_{35}$。**78** 的 IR 光谱在 1697 cm^{-1}处显示一羰基吸收峰，在 1645 cm^{-1}处显示一 α,β-不饱和羰基吸收峰。通过仔细分析^{13}C-NMR 及 2D-NMR 图谱，**78** 的苷元被确定为齐墩果酸。其中苷元 C-3 位的化学位移在 δ 88.6，C-28 位的化学位移在 δ 176.5，表明化合物 **78** 为一双糖链三萜皂苷。在 **78** 的^{1}H-NMR 谱中观测到 7 个糖的异头质子信号，分别位于 δ 4.83(1H,d,J=7.9 Hz)、4.93(1H,d,J=7.0 Hz)、5.03(1H,d,J=7.0 Hz)、5.09(1H,d,J=5.5 Hz)、5.12(1H,d,J=7.4 Hz)、6.09(1H,d,J=8.6 Hz)和 6.34(1H,br s)。在 **78** 的^{13}C-NMR谱中共观测到 78 个碳信号，其中 30 个碳信号属于苷元齐墩果酸，7 个糖的异头碳信号分别位于 δ 94.6、101.5、102.4、105.9、106.4、106.7 及 106.8。除苷元与 7 个糖单元的信号外还多出 10 个碳信号，属于一单萜酸。

将 **78**(40 mg)加入 0.8mol/L 的 NaOH 溶液(2 mL)中，于 80℃加热 4h。冷却后用 1mol/L HCl 中和，然后用正丁醇进行萃取(2 mL×3)。合并有机相，减压蒸干。采用 HPLC 对残留物质进行纯化得次生皂苷 **79**(30 mg)及单萜酸 **80**(4 mg)。将化合物 **78** 加入 1mol/L 的 NaOH 溶液(2 mL)，于 100℃加热 4h，采用与上述相同纯化方法，得到次生皂苷 **81**。

将 **78**(40 mg)加入 1mol/L HCl 溶液(二氧六环-水，1∶1)(1 mL)，水浴 80℃加热 2h。蒸除二氧六环后，用乙酸乙酯萃取剩余水液(1 mL×3)。萃取液用水洗涤、浓缩，得到齐墩果酸(10 mg)。将乙酸乙酯萃取后残留水液通过 Amberlite MB-3 离子交换树脂柱进行中和，浓缩至干，然后加入 1-(trimethylsilyl)-imidazole 室温反应 2h。用水分解过量的三甲基硅烷化试剂，然后用正己烷萃取反应产物(1 mL×2)。用 GC 检测所得单糖的三甲基硅烷化衍生物，通过与标准品比较，确定皂苷 **78** 中糖的组成分别为葡萄糖、木糖、阿拉伯糖和鼠李糖。

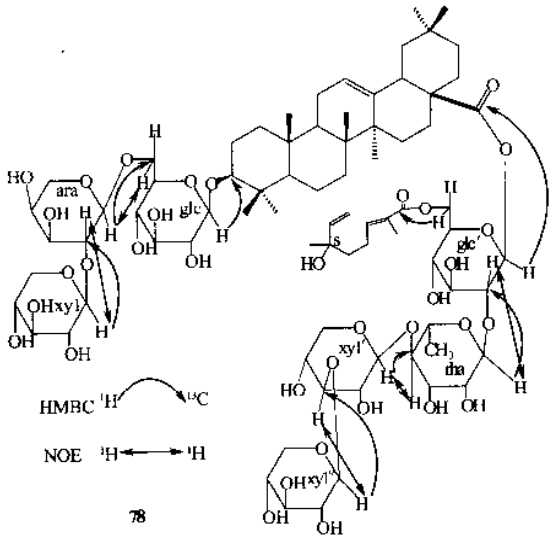
结合分析化合物 **78** 的 DQF-COSY、2D HOHAHA 及 ROESY 图谱，从糖的异头质子开始，对每个糖单元内的各质子信号进行归属。然后，利用 HETCOR 实验，可进一步对各个糖单元的碳信号进行归属。根据上述归属的化学位移，化合物 **78** 所含的 7 个糖包括 2 个葡萄糖、3 个木糖、1 个鼠李糖及 1 个阿拉伯糖，且每个糖单元都以吡喃型糖的形式存在。进一步由各个糖的异头质子偶合常数，$^1J_{C1,H1}$及 NOE 信息，确定葡萄糖和木糖的端基构型为 β 构型，阿拉伯糖和鼠李糖的端基构型为 α 构型。

通过分析 NMR 图谱及与文献报道数据比较，次生皂苷 **79** 和 **81** 的结构分别确定为 3-*O*-β-D-吡喃木糖-(1→2)-α-L-吡喃阿拉伯糖-(1→6)-β-D-吡喃葡萄糖基齐墩果酸 28-*O*-β-D-吡喃木糖-(1→3)-β-D-吡喃木糖-(1→4)-α-L-吡喃鼠李糖-(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖酯及 3-*O*-β-D-吡喃木糖-(1→2)-α-L-吡喃阿拉伯糖-(1→6)-β-D-吡喃葡萄糖基齐墩果酸[72]；单萜酸 **80** 被确定为(6*S*,2*E*)-6-羟基-2,6-二甲基-2,7-辛二烯酸[73]。



78

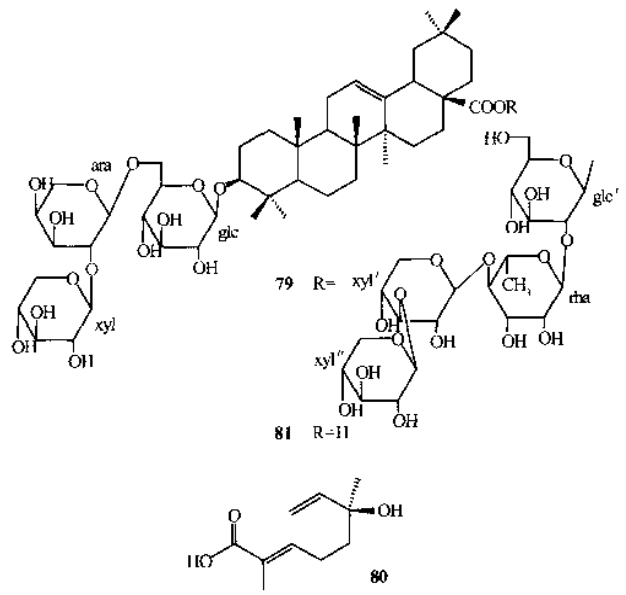
在 **78** 的 HMBC 图谱中，可观察到 ara 的异头质子信号与 glc 的 C-6 信号有远程相关关系；xyl 的异头质子信号与 ara 的 C-2 信号有远程相关关系；glc 的异头质子信号与苷元的 C-3 信号有远程相关关系，由此可确定与苷元 C-3 位连接糖链中各糖单元的连接位置。与苷元 C-28 连接的糖链中各糖单元的连接位置由以下碳氢远程相关信息确定：rha 的异头质子信号与 glc′的 C-2 信号有远程相关关系；xyl′的异头质子信号与 rha 的 C-4 信号有远程相关关系；xyl″的异头质子信号与 xyl′的 C-3 信号有远程相关关系；glc′的异头质子信号与苷元 C-28 羧基信号有远程相关关系(图 10-1)。在 **78** 的 ROESY 谱中，可观测到 xyl 的异头质子与 ara 的 H-2 信号有 NOE 相关关系；ara 的异头质子与 glc 的 H-6 信号有 NOE 相关关系；xyl″的异头质子与 xyl′的 H-3 信号有 NOE 相关关系；xyl′的异头质子与 rha 的 H-4 信号有 NOE 相关关系；rha 的异头质子与 glc′的 H-2 信号有 NOE 相关关系(图 10-2)。由上述碳氢远程相关及 NOE 相关信息可完全确证 **78** 结构中苷元及各糖单元之间的连接位置。



78

图 10-2 化合物 **78** 的 HMBC 和 NOESY 谱中主要碳氢远程和 NOE 相关信号

在 **78** 的 HMBC 图谱中，还可观察到 glc′的两个 6 位质子与单萜酸的羰基碳信号有远程相关关系，进一步推断单萜酸 **80** 通过酯键与 glc′的 6 位连接(图 10-2)。比较 **78** 与次生皂苷 **79** 的 ^{1}H-NMR 数据，可发现 **78** 中 glc′的 6 位两质子明显向低场位移，由此进一步证明单萜酸 **80** 的连接位置。



78 的 FAB MS 中存在的一系列碎片离子信号可为确定其结构提供辅助信息，观测到的碎片信号主要包括 m/z 617 [苷元+glc]$^-$，749 [617+ara]$^-$，881 [749+xyl]$^-$，1189 [881+glc′+rha]$^-$，1355 [M-xyl′-xyl″]$^-$，1453 [M-单萜酸]$^-$及 1487 [M-xyl″]。由这些碎片离子信息得出的糖单元连接顺序结果与由 NMR 法所得结果相符合。

通过对上述信息的综合分析，gleditsioside A(**78**)的结构得到最终确定，其 NMR 数据见表 10-2。

表 10-2 皂荚皂苷(gleditsioside A，78)的^{1}H-NMR 和^{13}C-NMR 数据

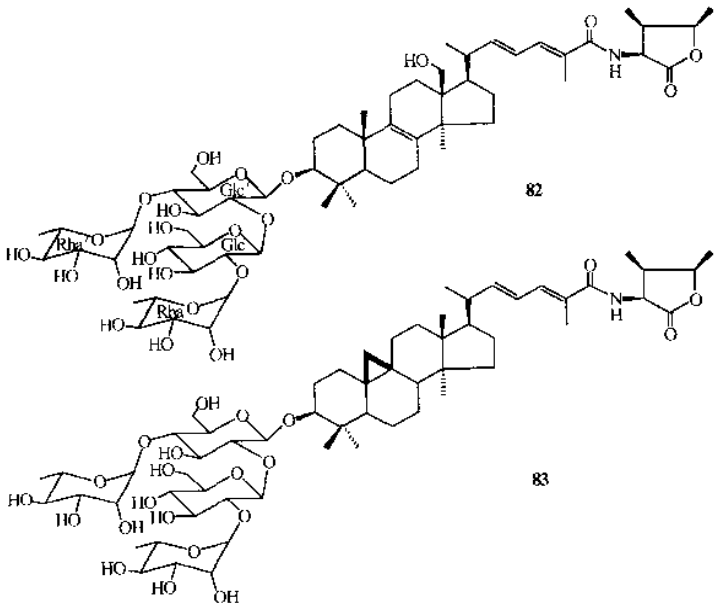
序号	^{1}H	^{13}C	序号	^{1}H	^{13}C
1		38.6	27	1.35 s	26.1
2		26.8	28		176.5
3		88.6	29	0.87 s	33.2
4		39.6	30	0.97 s	23.9
5		55.9	1′		168.0
6		18.7	2′		127.7
7		33.3	3′	7.02 t 7.9	143.5
8		40.0	4′	2.45 m	24.0
9		48.1		2.35 m	
10		37.1	5′	1.76 m	41.5
11		23.8	6′		71.9
12	5.44 br s	122.9	7′	6.09 dd 17.4,10.7	146.6
13		143.9	8′	5.52 dd 17.4,1.8	111.7
14		42.3		5.17 dd 10.7,1.8	
15		28.4	9′	1.88 s	12.5
16		23.4	10′	1.46 s	28.6
17		47.2	Glc-1	4.83 d 7.9	106.7
18		41.9	2	4.06	75.7
19		46.3	3	4.18	78.4
20		30.7	4	4.12	72.1
21		34.0	5	4.07	76.2
22		32.5	6	4.23	69.6
23	1.39 s	28.2		4.65	
24	0.98 s	17.1	Ara-1	5.09 d 5.5	102.4
25	0.89 s	15.7	2	4.50	80.7
26	1.04 s	17.6	3	4.36	72.7

续表

序号	^1H	^{13}C	序号	^1H	^{13}C
4	4.34	67.5	2	4.80	71.6
5	3.73	64.4	3	4.69	72.5
	4.25		4	4.35	84.9
Xyl-1	4.93 d 7.0	106.4	5	4.40	68.3
2	4.02	75.3	6	1.72 d 6.1	18.4
3	4.05	77.9	Xyl′-1	5.03 d 7.0	106.8
4	4.13	70.9	2	4.05	75.1
5	3.57	67.3	3	4.01	87.4
	4.35		4	4.07	68.9
Glc′-1	6.09 d 8.6	94.6	5	3.45	66.9
2	4.37	76.8		4.21	
3	4.24	79.0	Xyl″-1	5.12 d 7.4	105.9
4	4.10	71.3	2	4.05	75.2
5	4.06	75.8	3	4.10	78.1
6	4.71	64.3	4	4.13	70.8
	4.88		5	3.65	67.4
Rha-1	6.34 br s	101.5		4.26	

3. 山甘草皂苷 Q (mussaendoside Q,82)的结构研究[4,74]

山甘草是茜草科植物毛玉叶金花(*Mussaenda pubescens* Ait. f.)的茎叶,是一种草药,主要分布于广东、广西、福建等省,具有解表,清暑,利湿,解毒和活血等功效,民间也用该草药治疗急性胃肠炎。对采自广东肇庆的山甘草药材用95%乙醇浸提,将95%乙醇提取液减压浓缩得水液,依次以石油醚、乙酸乙酯及正丁醇与水液进行分配。将正丁醇部位减压浓缩至干并溶于少量水,首先进行大孔树脂(D-101)色谱分离,依次用水、50%乙醇及95%乙醇洗脱,其中皂苷类成分主要集中于95%乙醇洗脱部位。对经过大孔树脂柱色谱分离所得的总皂苷进行硅胶柱色谱分离,以梯度氯仿-甲醇-水洗脱,所得流分进一步利用RP-18 Lobar色谱柱分离,以甲醇-水、乙醇-水或乙腈-水为洗脱剂洗脱,得到近20个新三萜皂苷类化合物。下面以山甘草皂苷Q(**82**)为例,介绍利用波谱技术进行皂苷结构解析的方法。



82

83

山甘草皂苷 Q(**82**)，白色无定型粉末，正离子 FAB-MS 给出准分子离子信号 m/z 1220，结合该化合物的 NMR 数据，推出其分子式为 $C_{60}H_{95}NO_{23}$。比较化合物 **82** 与从该植物中分离得到的山甘草皂苷 O(**83**)的 ^{1}H 和 ^{13}C-NMR数据，推出化合物 **82** 与 **83** 具有相同的边链取代，其不同之处在于化合物 **82** 的 ^{1}H-NMR 谱中未能观测到如化合物 **83** 位于高场的两个 H-19 偕质子，且在化合物 **82** 的 ^{13}C-NMR 谱中多出位于 δ 133.6 和 136.0 ppm 的一对四取代双键碳信号。从生源角度考虑，该四取代双键可能位于 $\Delta^{8,9}$。在化合物 **82** 的 HMBC 谱中观测到 H-19 与 C-1、C-10 及位于 δ 136.0 ppm(C-9)碳信号之间，H-30 与 C-13，C-14，C-15 及位于 δ 133.6 ppm(C-8)碳信号之间的碳氢远程相关信号，由此确证了四取代双键位于 $\Delta^{8,9}$(图 10-3)。与化合物 **83** 相比，化合物 **82** 的苷元中还有一甲基被羟基取代，经分析 HMBC 谱中的 C—H 远程相关信号，确定 C-18 为羟甲基。化合物 **82** 具有一羊毛甾烷型三萜皂苷元，其苷元的 ^{1}H 和 ^{13}C-NMR 谱信号经综合分析 ^{1}H-^{1}H COSY、TOCSY、HMQC、HMBC 及 ROESY 谱得到全部归属。

化合物 **82** 经酸水解得葡萄糖及鼠李糖。根据分析 ^{1}H 和 ^{13}C-NMR 谱信号，每分子化合物 **82** 中含有 **2** 个葡萄糖单元及 2 个鼠李糖单元。四个糖单元的 ^{1}H 和 ^{13}C-NMR 谱信号也通过综合分析 ^{1}H-^{1}HCOSY、TOCSY、HMQC、HMBC 及 ROESY 谱得到归属。在化合物 **82** 的 ^{1}H-NMR 谱中，一个葡萄糖与一个鼠李糖单元的异头质子信号在 δ 5.71 ppm 处重叠；而在化合物 **82** 的 ^{13}C-NMR 谱中，一个葡萄糖与一个鼠李糖单元的异头碳信号在 δ 101.8 ppm 处重叠。上述糖单元异头信号的重叠阻碍了通过分析其 HMBC 谱和 ROESY 谱来确定苷元及各糖单元之间的连接方式。为解决这一问题，对化合物 **82** 进行了全乙酰化。在全乙酰化 **82** 的 ^{1}H 和 ^{13}C-NMR 谱中，四个糖单元的异头信号无一重叠。此外，由于进行全乙酰化，其 ^{1}H-NMR 谱中糖单元的信号分布在更大范围，更有利于糖信号的归属。通过分析全乙酰化 **82** 的 HMBC 谱和 ROESY 谱，确定了苷元及各糖单元之间的连接方式(图 10-4)。化合物 **82** 的结构最后确定为 *N*-(2*S*,3*R*,4*R*-3-methyl-4-pentanolid-2-yl)-18-hydroxylanosta-8(9),22*E*,24*E*-trien-27-amide-3-*O*-[α-L-rhamnopyranosyl(1→2)-*O*-β-D-glucopyranosyl (1→2)]-α-L-rhamnopyranosyl(1→4)-*O*-β-D-glucopyranoside，其 NMR 数据见表 10-3。

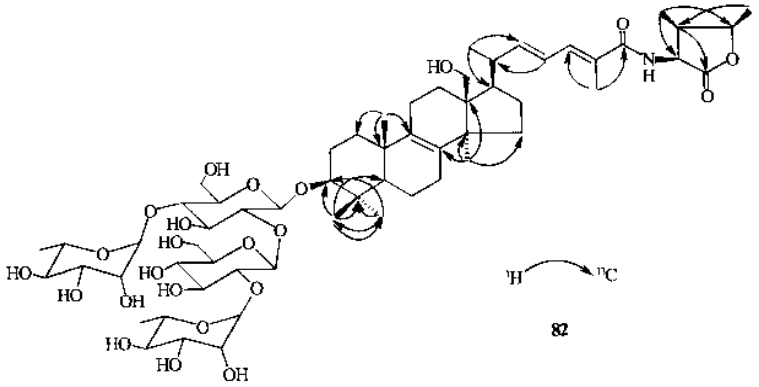

HO
OH
HO
HO
HO
HO
HO
HO
HO
OH
HO
HO
OH
N
H
O
O
O

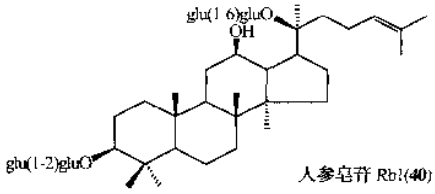
表 10-3 化合物 82 的^{1}H-NMR 和^{13}C-NMR 数据

序号	^{1}H	^{13}C	序号	^{1}H	^{13}C
1α	1.09 m	35.7	29	1.07 s	28.0
1β	1.52 m		30	1.32 s	16.4
2α	2.08 m	26.8	1′		175.6
2β	1.70 m		2′	5.62 dd 7.4,7.4	55.2
3	3.26 dd 11.7,4.0	89.7	3′	2.88 m	38.4
4		39.5	4′	4.65 m	76.9
5	1.09 m	50.8	3′-Me	0.83 d 7.3	7.9
6α	1.98 m	18.2	4′-Me	1.14 d 6.5	15.3
6β	1.41 m		NH	9.03 d 7.6	
7α	1.70 m	25.3	Glc′-1	4.83 d 8.1	104.7
7β	2.55 m		2	4.32 m	79.1
8		133.6	3	4.48 m	77.4
9		136.0	4	4.20 m	79.1
10		36.8	5	3.66 m	76.2
11α	2.06 m	21.4	6a	4.05 m	61.4
11β	2.21 m		6b	4.23 m	
12α	1.64 m	26.5	Glc -1	5.71 m	101.8
12β	1.98 m		2	4.23 m	78.2
13		49.3	3	3.81 m	77.4
14		50.0	4	4.00 dd 9.4,8.8	72.6
15α	1.23 m	31.0	5	4.20 m	79.1
15β	1.58 m		6a	4.23 m	63.3
16α	1.69 m	28.8	6b	4.43 m	
16β	1.49 m		Rha′-1	5.71 m	102.5
17	1.69 m	50.4	2	4.61 brs	72.3
18a	3.82 m	62.2	3	4.50 m	72.4
18b	3.74 d 11.5		4	4.24 m	73.7
19en	0.89 s	19.2	5	4.84 m	70.4
19ex			6	1.64 d 6.1	18.4
20	2.90 m	41.6	Rha -1	6.37 s	101.8
21	1.35 d 6.2	21.2	2	4.72 brs	72.2
22	5.71 m	148.9	3	4.63 m	72.6
23	6.38 dd 14.8,11.0	123.4	4	4.28 m	73.9
24	7.26 d 11.0	134.9	5	4.95 m	69.2
25		128.4	6	1.76 d 6.2	18.8
26	2.10 brs	13.2			
27		170.6			
28	1.03 s	25.8			

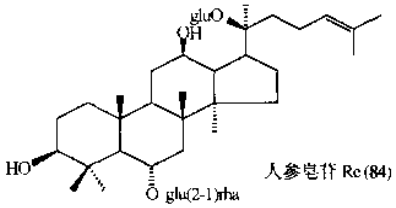
4. 人参皂苷

人参(*Panax ginseng* C. A. Mayer)是传统的滋补中药,它含有多种化学成分,人参皂苷是其主要有效成分,含量约 4%,根须中人参皂苷的含量比主根要高。经过多年的努力,从植物人参中分离出的皂苷类成分计 40 余种。这些皂苷根据其苷元的不同可分为 A、B、C 三类,其中以原人参二醇为苷元的 A 型皂苷最多,如人参皂苷 Rb1(**40**);以原人参三醇为苷元的 B 型次之,如人参皂苷 Re(**84**);以齐墩果酸为苷元的 C 型最少,仅人参皂苷 R_0(**85**)一种。

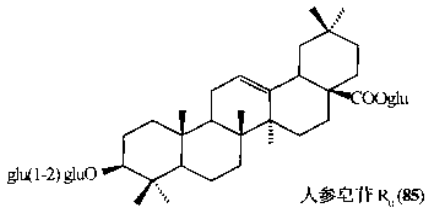
(1)A 型皂苷



(2)B 型皂苷



(3)C 型皂苷



A 型、B 型人参皂苷的真实皂苷元原人参二醇和原人参三醇均为达玛烷型三萜、原人参二醇和原人参三醇的结构很相似，后者仅比前者多了一个 6α-OH。在大部分人参皂苷中，C-20 的构型为 *S*，仅近来分离得到的几个人参皂苷中为 *R* 构型。原人参二醇和原人参三醇的结构对酸不稳定，即使在乙酸中回流，C-20 的构型也会变化，随着水解条件的不同，从人参皂苷可以得到不同的产物。

第六节 甾体皂苷

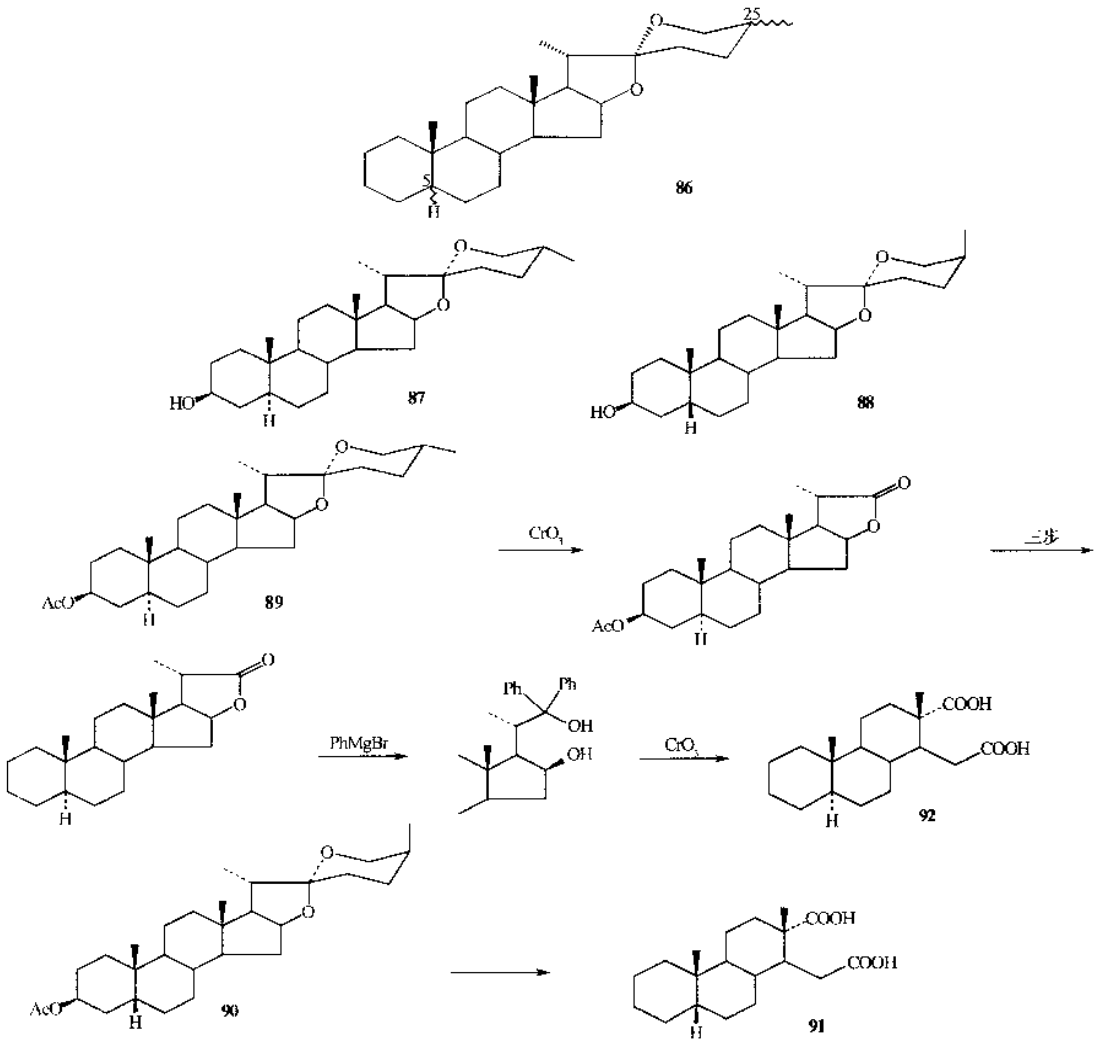
甾体皂苷是以 C-27 甾体化合物为苷元的一类皂苷，主要分布于百合科、薯蓣科和茄科植物中，其他科如玄参科、石蒜科、豆科、鼠李科的一些植物中也含有甾体皂苷，常用中药知母、麦冬、七叶一枝花等都含有大量的甾体皂苷。甾体皂苷元是医药工业中生产黄体酮、性激素及皮质激素的重要原料。

一、甾体皂苷元

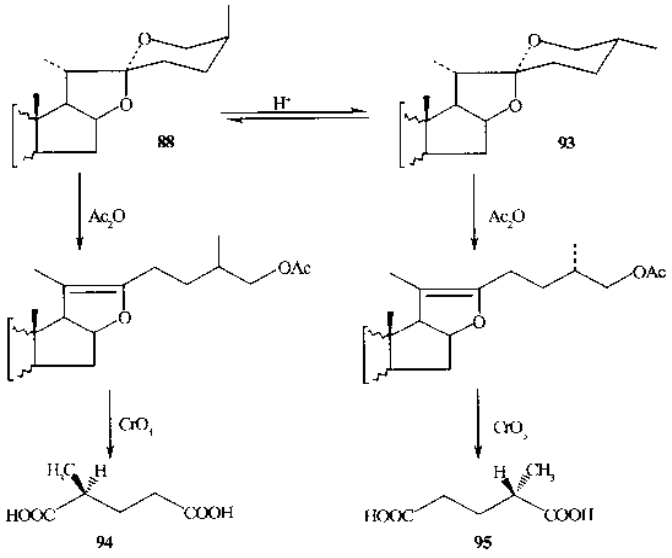
最常见的甾体皂苷元是螺旋甾烷(spirostane，**86**)的衍生物，在其侧链上有一特征的螺旋缩酮结构。天然存在的螺旋甾烷存在 C-5 和 C-25 两类差向异构体，其他手性碳的构型是不变的。

提果皂苷元(tigogenin，**87**)和菝契皂苷元(sarsasapogenin，**88**)和是一对差向异构体，它们的乙酰化物 **89** 和 **90** 经过一系列化学降解反应，分别生成已知构型的初胆甾酸(acetiobillianic acid，**91**)和初别胆甾酸(acetioallobillianic acid，**92**)[75,76]，这不仅证实了菝契皂苷元和提果皂苷元为一对 C-5 差向异构体，同时也得出了环 B/C，C/D 之间的偶合形式。

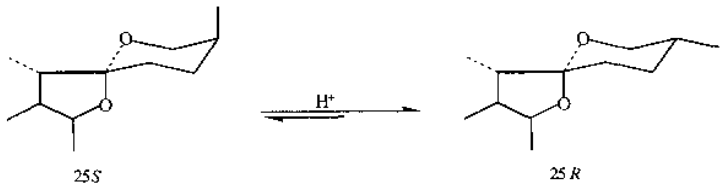
螺旋甾烷的侧链上有 C-20、C-22 和 C-25 三个手性中心，其中 C-20 和 C-22 分别为 *S* 和 *R* 构型，C-25 产生的异构体在植物界广泛存在。这两种异构体可相互转化，菝契皂苷元在盐酸-乙醇溶液中异构成异菝契皂苷元(smilagenin，**93**)。按照一般的化学常识，这种异构化反应似乎应该发生在 C-22 位，但菝契皂苷元和异



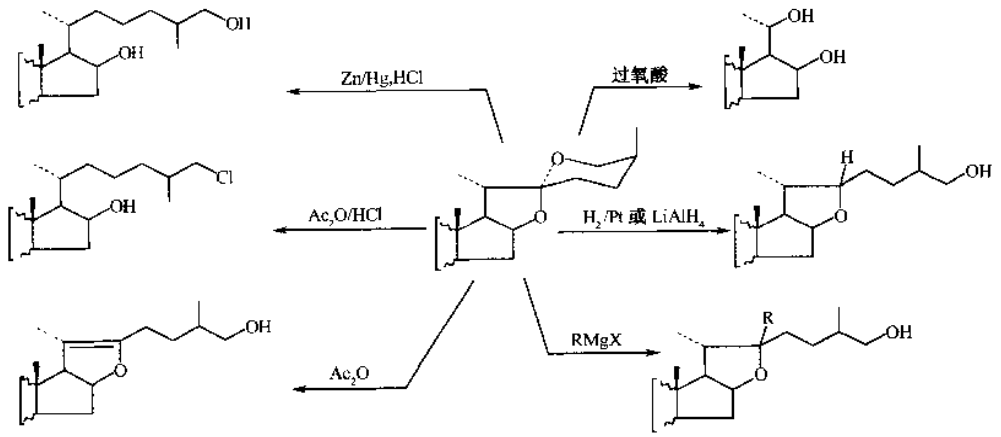
菠契皂苷元通过下面的降解反应分别得到 L(+)-α-甲基戊二酸(**94**)和 D(−)-α-甲基戊二酸(**95**),证明异构化发生在苷元的 C-25 位[77]。



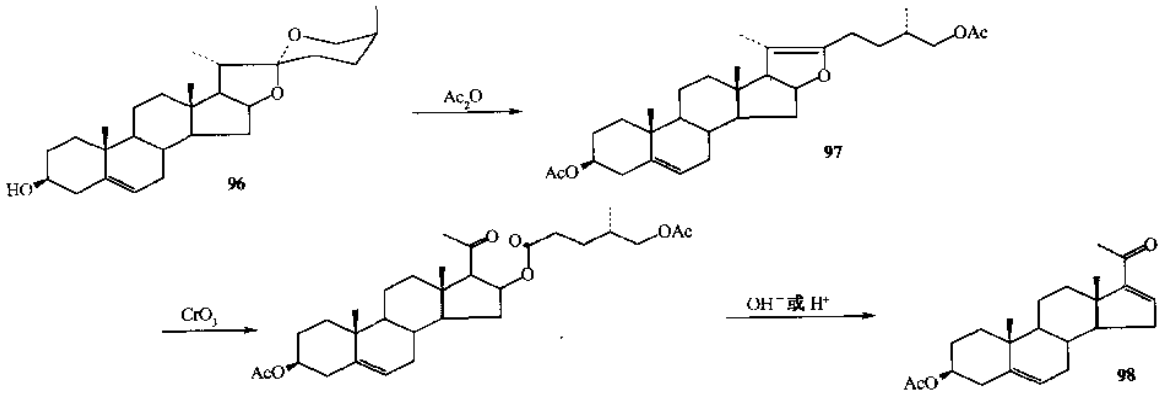
菝契皂苷元 C-25 甲基为直立键，而异菝契皂苷元中 C-25 甲基为平伏键，因而前者的稳定性比后者差，在酸性乙醇中异构化时，平衡倾向于异菝契皂苷元一边。在习惯上，这种差向异构体是以较不稳定的一个命名，较稳定的异构体则加上字头“异”。根据系统命名原则，这两个差向异构体则是用 25*S*-或 25*R*-标出相应螺旋甾烷 C-25 的绝对构型来区别。例如，菝契皂苷元可称为 25*S*-5β-螺旋甾-3β-醇。



螺旋甾烷类化合物的侧链较为活泼，可以进行 Clemmensen 还原，与格氏试剂加成，被 $LiAlH_4$ 或 H_2/Pt 还原，与过氧酸发生 Bayer-Villige 氧化，以及在 Ac_2O、Ac_2O-HCl 中开环等。这些反应都是围绕着螺旋缩酮进行的。



薯蓣皂苷元(diosgenin，**96**)在乙酐[78]或乙酐-吡啶盐酸盐[79]中回流得到 F 环开环的二乙酰伪薯蓣皂苷元(pseudodiosgenin diacetate，**97**)，再用三氧化铬氧化，消除 β-酰氧基得到 3β-乙酰氧基-孕甾-5，16-二烯-20-酮(3-acetoxy-pregna-5，16-dien-20-one，**98**)，进一步可得孕酮。



这种降解对其他甾体皂苷元同样适用，它是大规模合成孕酮及性激素、皮质激素的基础。

二、甾体皂苷元的波谱解析

1. 紫外光谱

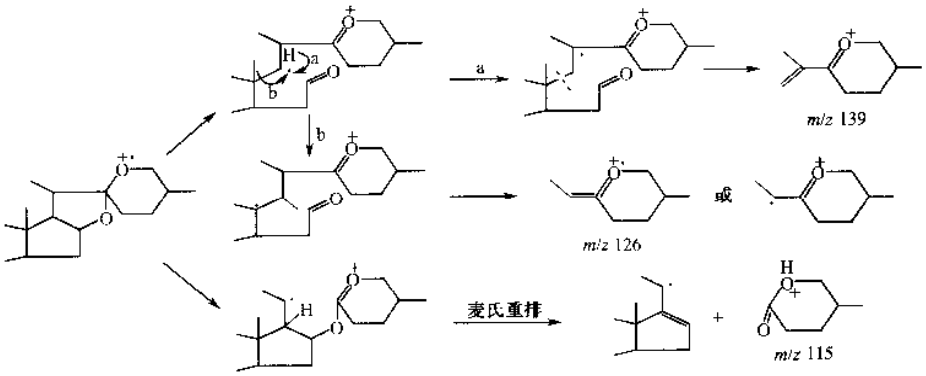
饱和的甾体皂苷元在200～400 nm间无吸收，如果结构中引入孤立双键、羰基、α，β-不饱和酮基或共轭双键，则可产生吸收。含孤立双键的甾体皂苷元在205～225 nm有吸收（ε 900左右），含羰基的甾体在285 nm有一弱吸收（ε 500）；具有α，β-不饱和酮基的甾体在240 nm处有特征吸收（ε 11 000），共轭双烯在235 nm有吸收。

2. 红外光谱[80,81]

含有螺缩酮结构侧链的甾体皂苷元在红外光谱中几乎都显示980 cm^{-1}(A)、920 cm^{-1}(B)、900 cm^{-1}(C)和860 cm^{-1}(D)附近的四个特征吸收谱带，且A带最强。在25S型甾体皂苷或皂苷元中，B带 > C带，在25R型甾体皂苷或皂苷元中则是B带<C带，据此可区别C-25位两种立体异构体。

3. 质谱[82]

甾体皂苷元由于分子中有螺甾烷侧链，其EI质谱中出现很强的 m/z 139的基峰，中等强度的 m/z 115的碎片离子峰及弱的 m/z 126辅助离子峰。这些峰的裂解途径可解释如下：



若C-25或C-27位有羟基取代，这三个峰质量均上移16 amn为 m/z 155、m/z 131及 m/z 142。C-25，C-27位双键取代，这三个峰均下移2 amn，为 m/z 137、m/z 113及 m/z 124。但C-23位有OH取代的皂苷元，其 m/z 139基峰消失，也没有质量位移的相应峰。

4. 核磁共振谱

甾体皂苷元在^{1}H-NMR谱高场区有四个甲基（即18、19、21和27位甲基）质子的特征峰，其中18、19位甲基均为单峰，且前者处于较高场。21、27位甲基均为双峰，且后者处于较高场。如果25位有OH取代，则27位甲基成为单峰，并向低场位移。16和26位上的氢为连氧碳上的质子，处于较低场。以上质子容易辨认，而其他碳原子上氢的化学位移相近，难于识别。

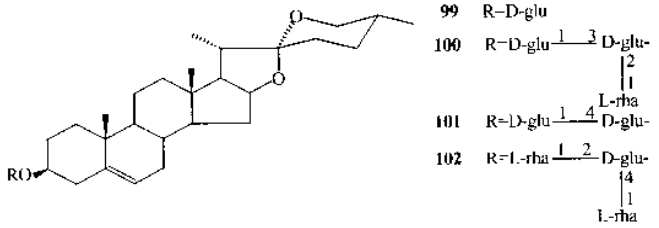
27位甲基的化学位移值还因其构型不同而有区别。甲基为α-取向（横键，25-R构型）的化学位移值要比β-取向（竖键，25S构型）处于高场，因此可利用27位甲基的化学位移值来区别25R和25S两种异构体。甾体皂苷元25R和25S异构体在^{1}H-NMR谱中的区别还表现在C-26位两个氢的化学位移差别。在25R异构体中，C-26位两个氢的化学位移相似；在25S异构体中，两个氢的化学位移差别较大[83]。

与信号重叠十分严重的甾体皂苷元的^{1}H-NMR谱相比，甾体皂苷元分子中的27个碳信号在^{13}C-NMR谱中可得到很好的辨认。迄今已有许多甾体皂苷元及甾体皂苷的^{13}C-NMR数据综述报道[84～86]。在获得一甾体皂苷后，通过与有关文献报道数据进行比较，并参考取代基对化学位移的影响，基本可推知甾体皂苷元的结构。

三、螺旋甾烷类皂苷

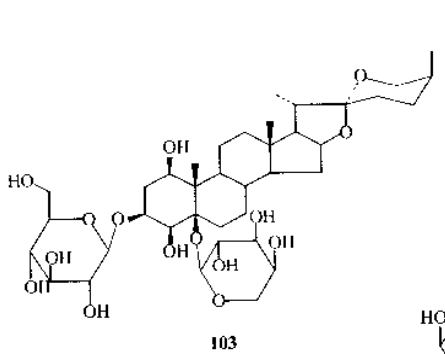
螺旋甾烷类化合物通常是以 C-3 位的羟基与糖结合生成皂苷，其他位置如 C-1、C-2、C-5、C-11 位的羟基有时也被苷化。近年来从植物中分得许多 C-26 位羟基苷化的皂苷，这些皂苷由于 F 环开环，性质上较为独特，因而把它们与螺旋甾烷类皂苷分开，放在后面讨论。

薯蓣属（*Dioscorea*）是薯蓣科中最大的一个属，其中大多数植物都含有甾体皂苷。20 世纪 30 年代中期，藤井胜也、塚本赳夫等从山萆薢（*D. tokoro*）中分出了该属的第一个甾体皂苷元——薯蓣皂苷元（**96**）之后，由于用简单而经济的方法将薯蓣皂苷元转化为甾体激素获得成功，薯蓣皂苷元成为合成激素药物的重要原料，这大大地促进了对该属植物中的甾体皂苷的研究。朱任宏教授在国内首次从川萆薢（*D. septemloba*）中分出了薯蓣皂苷元，开创了我国甾体皂苷研究的先河。迄今从薯蓣属植物中已分离得到大量甾体皂苷。盾叶薯蓣（*D. zingiberensis*）和穿龙薯蓣（*D. nipponica*）是国内生产薯蓣皂苷元的主要原料，前者的干燥茎中主要含三种皂苷：延令草次苷（trillin，**99**）、纤细皂苷（gracillin，**100**）和薯蓣皂苷元双葡萄糖苷（diosgenin-diglucoside，**101**）[87]，后者的主要甾体皂苷成分为薯蓣皂苷（dioscin，**102**）和纤细皂苷[88]。蜀葵叶薯蓣（*D. althaeoides*）中薯蓣皂苷元的含量较高，资源也较丰富，具有潜在的经济价值，它所含的甾体皂苷主要也是薯蓣皂苷和纤细皂苷[89]。

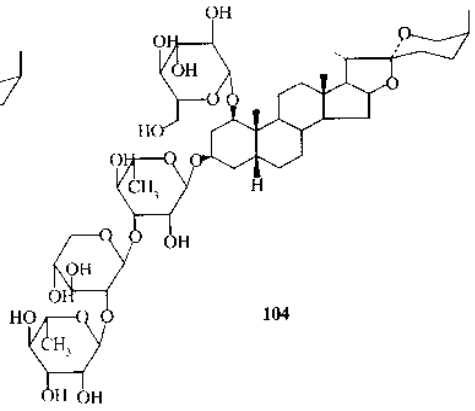


甾体皂苷常与强心苷共存于同一植物中，产于东北地区的铃兰（*Convallaria keiskei* Miq）含有多种强心苷，同时在其花中也分离出了一系列甾体皂苷。这些甾体皂苷的苷元 A 环上常有多个羟基取代，除了 OH-3 与糖结合成苷外，其他羟基也常与糖结合形成双糖链皂苷。铃兰葡萄糖苷 B（glucoconvallasaponin B，**103**）和铃兰皂苷 D（convallasaponin D，**104**）就是这种双糖链皂苷。

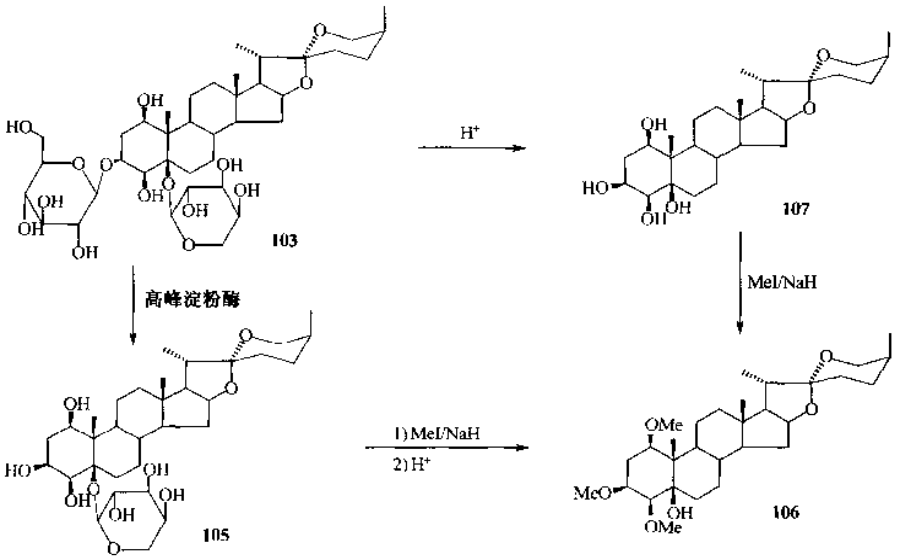
铃兰葡萄糖苷 B（**103**）结构中阿拉伯糖取代位置确定方法如下：铃兰葡萄糖苷 B 用高峰淀粉酶水解去掉葡萄糖得到铃兰皂苷 B（convallasaponin B，**105**），**105** 用 Hakamori 法甲基化，产物水解得到 1，3，4-三-*O*-甲基铃兰皂苷元 B（**106**），其 IR 中 3585 cm^{-1} 尖峰表示叔羟基存在。由铃兰皂苷元 B（**107**）甲基化也得到 1，3，4-三-*O*-甲基铃兰皂苷元 B（**106**），由此证明阿拉伯糖是连接在苷元的 C-5 羟基上[90]。



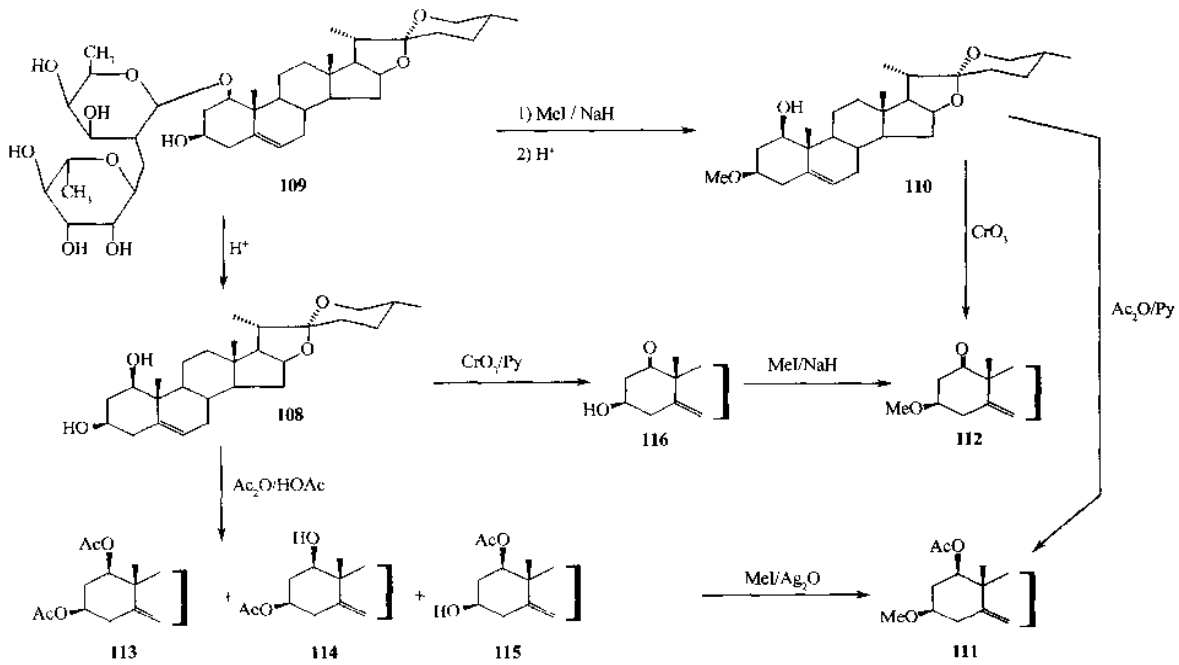
103



104



麦冬(*Ophiopogon japonicus*)又名沿阶草,具有润肺生津、清热止渴作用,从中分离得到的四个皂苷都具有假叶树皂苷元(ruscogenin,**108**)。四个皂苷的糖链都是连接在苷元的 C 1 羟基上,这通过化学反应得到证明。麦门冬皂苷 B(ophiopogenin B,**109**)全甲基化后水解得到 3-*O*-甲基假叶树皂苷元(**110**),**110** 乙酰化得 **111**,氧化得 **112**。假叶树皂苷元(**108**)在乙酸中用醋酐乙酰化得到三个化合物 **113**、**114** 和 **115**,**115** 用 Kuhn 法甲基化得到 **111**。另外,假叶树皂苷元(**108**)用三氧化铬氧化可得到化合物 **116**,**116** 再甲基化得到 **112**,从而证明了麦门冬皂苷中糖链的连接位置[91]。

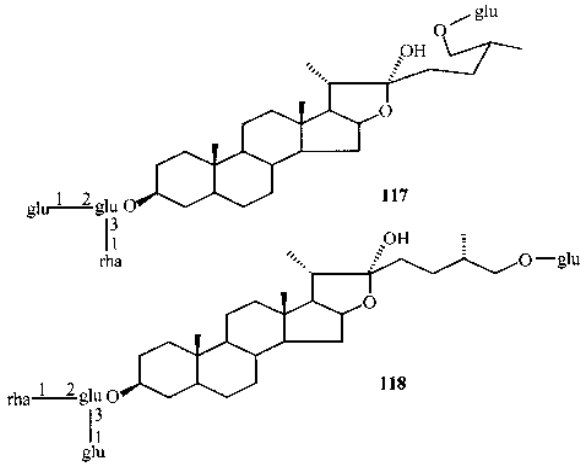


四、呋喃甾烷类皂苷

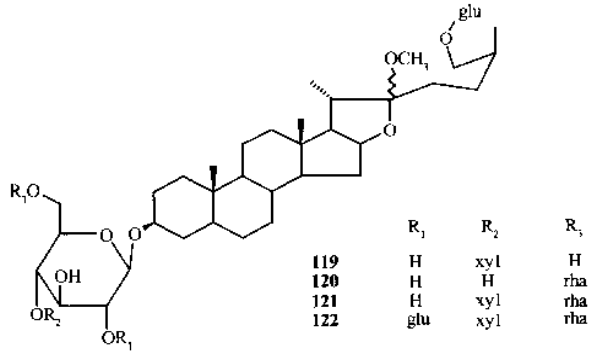
一些研究表明在新鲜的植物中,一些螺旋甾烷类皂苷实际上并不存在,只不过是在植物的干燥、储存过

程中产生的，它们的原皂苷是F环开环后，OH-26苷化形成的呋喃甾烷型皂苷。呋喃甾烷型皂苷在早期的工作中没有发现，其原因一方面是原皂苷的极性大难以分离；另一方面由于没有认识到植物体内的酶对原皂苷的水解作用，以至在分离之前原皂苷已被转化为相应的次皂苷。对一些植物的重新研究表明这类原皂苷在含甾体植物的体内是普遍存在的。

蓼蒲属植物中含有多种次皂苷，这是大家非常熟悉的，对新鲜的盾叶蓼蒲(*D. zingiberensis*)重新研究表明，其中主要含有两种呋喃甾烷类原皂苷，原盾叶皂苷(protozingberenssaponin，**117**)和原纤细皂苷(protogracillin，**118**)，而在干燥的盾叶蓼蒲中仅分得三个次皂苷[92]。

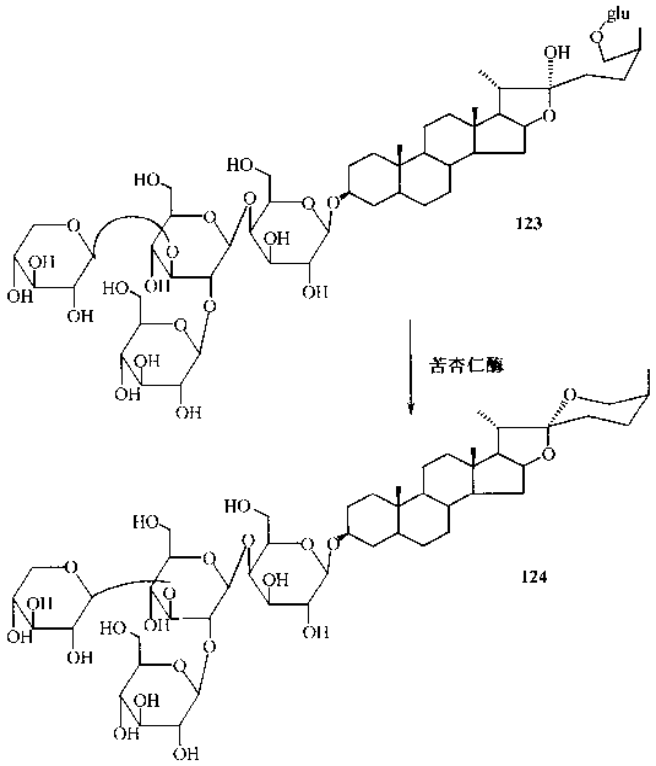


天门冬 [*Asparagus cochichinensis* (Loureio) Merrill]是一种常见的中药，人们对其中的螺旋甾烷类次皂苷曾做过大量的研究工作。Konishi等从新鲜的天门冬中分离出四个原皂苷：天冬皂苷Ⅳ(**119**)、Ⅴ(**120**)、Ⅵ(**121**)和Ⅶ(**122**)[93]。

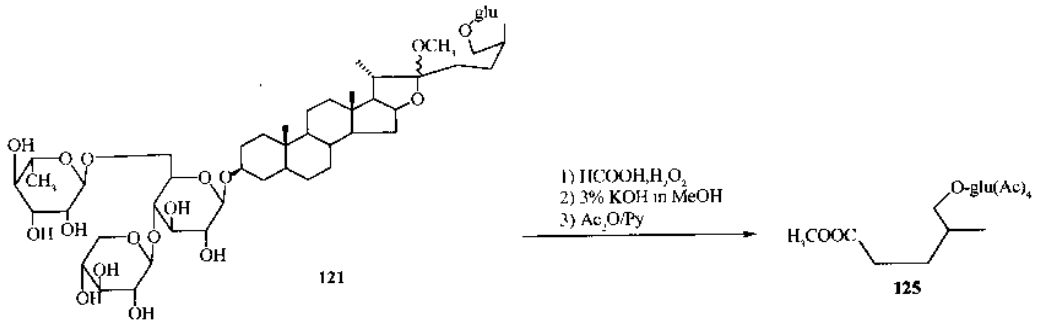


这四个原皂苷中的C-22甲氧基是在用甲醇热提取时产生的，改用吡啶提取所得的原皂苷结构中没有C-22甲氧基，C-22甲氧基在含水丙酮中回流可脱去。

至今发现的原皂苷在OH-26上所连接的糖都是葡萄糖，它很容易用酸或酶水解下来，失去C-26位葡萄糖的原皂苷F环自动环合得到相应的螺旋甾烷型次皂苷，而得不到F环开环的原皂苷。例如，原蜘蛛抱蛋皂苷(protoaspiditrin，**123**)在苦杏仁酶的作用下生成蜘蛛抱蛋皂苷(aspiditrin，**124**)[94]。这种温和的转化条件提示在植物的干燥、存放过程中，原皂苷也会在体内酶作用下向相应的次皂苷转化。同样由于F环极易环合，酸水解时不能得到呋喃甾烷类皂苷的皂苷元，而仅得到相应的螺旋甾烷类苷元。



呋喃甾烷型皂苷对 Ehrlich 试剂呈正反应，以此可区别于螺旋甾烷型皂苷。在 IR 中呋喃甾烷型原皂苷没有螺旋甾烷侧链的特征吸收，也可以用来区分这两类皂苷。在^{13}C-NMR 谱中，呋喃甾烷型皂苷的 C-26 由于苷化位移存在，其化学位移值要比螺甾烷型皂苷中的 C-26 的化学位移值大 7～10 ppm，约为 75 ppm。这不仅可明确地区别这两类皂苷，同时也证明了呋喃甾烷型皂苷中 OH-26 上连有糖。呋喃甾烷型皂苷经 Baeyer-Villiger 氧化可以得到 γ-甲基-δ-羟基戊酸葡萄糖苷（**125**），这从化学的角度证明了苷元 OH-26 被葡萄糖苷化了[93]。

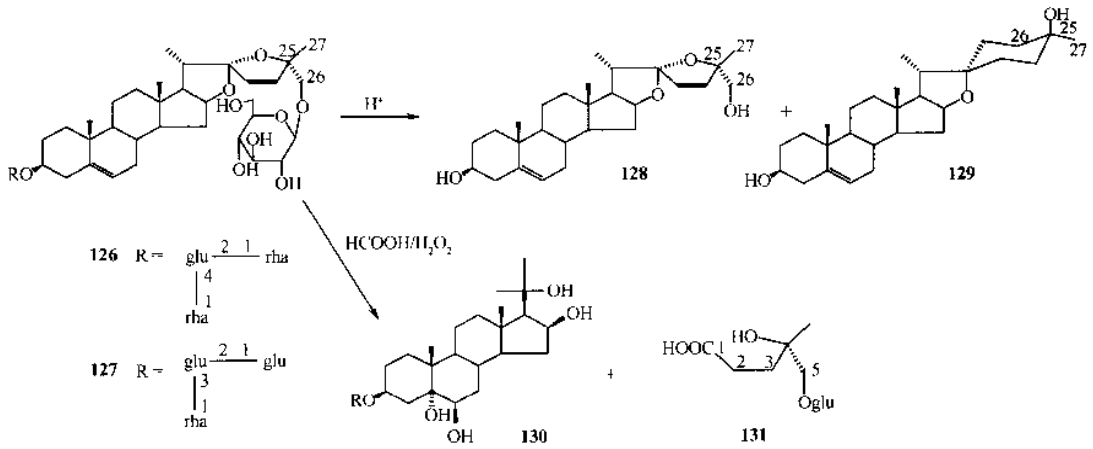


迄今已发现 200 多个呋喃甾烷型皂苷。张剑波等近期对有关呋喃甾烷型皂苷的研究工作进行了综述，这对了解该类成分在植物中的分布及研究其化学结构很有帮助[95]。

五、呋喃螺旋甾烷类皂苷

呋喃螺旋甾烷（furospirostane）类皂苷的数量很少，它与螺旋甾烷类皂苷不同之处是其苷元的 F 环是呋喃环，而不是吡喃环。从新鲜的茄属植物颠茄（*Solanum aculeatissimum*）中分离得到的颠茄皂苷 A 和 B［ac-

uleatiside A(**126**)和B(**127**)]是纽阿替皂苷元(**128**)的双糖链苷。酸水解时除得到**128**外,还得到其F环异构产物异纽阿替皂苷元(**129**),利用Baeyer-Villiger降解,可得到**130**及(*S*)-4,5-二羟基戊酸-5-*O*-β-D-吡喃葡萄糖苷(**131**),证明苷元的C-26羟基上仅连有一个葡萄糖[96]。



参考书目

徐任生.天然产物化学.北京:科学出版社,1989
姚新生.天然药物化学.第二版.北京:人民卫生出版社,1997
王宪楷.天然药物化学.北京:人民卫生出版社,1988
Waller G R et al. Saponins Used in Food and Agriculture. New York: Plenum Press, 1996
Waller G R et al. Saponins Used in Traditional and Modern Medicine, New York: Plenum Press, 1996

参考文献

[1] 王其颖等.医药工业,1987,11:481
[2] 林景南.中草药,1989,6:15
[3] Apers S et al. Proc Phytochem Soc Eur. 2000,45:57
[4] Zhao W M et al. J Nat Prod. 1994,57:1613
[5] Diallo B et al. J Chromatogr. 1991,558:446
[6] Kizu H et al. Chem Pharm Bull. 1980,28:3555
[7] Tschesche R et al. Ann Chem. 1964,680:107
[8] Smith F et al. Methods in Carbohydr Chem. 1965,5:361
[9] Nagai M et al. Chem Pharm Bull. 1972,20:1212
[10] Sakurei N et al. Chem Pharm Bull. 1979,27:158
[11] 孔繁华等.化学学报,1988,46:775
[12] 赵萍萍等.药学学报,1987,22:70
[13] Bettignies-Dutz A et al. J Chromatogr. 1991,547:299
[14] Hara S et al. Chem Pharm Bull. 1987,35:501
[15] He X G J Chromatogr. 2000,880:203
[16] Agrawal P K. Phytochem. 1992,31:3307
[17] Reuben J J Am Chem Soc 1985,107:1747
[18] Massiot G et al. J Chem Soc Chem Commun. 1986,1485
[19] Bothnerby A A et al. J Am Chem Soc. 1984,106:811
[20] Rao A V et al. Drug Metab Drug Interact. 2000,17:211
[21] 香港科技大学生物技术研究所.中药研究与开发综述,生物技术研究所访问学者文集.北京:科学出版社,2000:255
[22] Deng S et al. J Org Chem. 1999,64:202

[23] Hu K et al. Planta Medica, 1996, 62: 573
[24] Kong F H et al. Tetrahedron Lett. 1986, 27: 5765
[25] Yu L et al. Planta Medica, 1994, 60: 204
[26] Kim W et al. Koryo Insam Hakhoechi, 1989, 13: 24
[27] Kensil C R et al. Adv Exp Med Biol, 1996, 405: 165
[28] 鞠佃文等. 药学学报, 1994, 29: 252
[29] 李静波等. 中草药, 1992, 23: 249
[30] Takechi M et al. Phytochem, 1990, 29: 451
[31] 黄聪等. 中国药理学通报, 1991, 7: 190
[32] 李麟仙等. 中国药理学通报, 1991, 1: 56
[33] 高宝英等. 药学学报, 1992, 27: 641
[34] 雷春利等. 白求恩医科大学学报, 1994, 20: 326
[35] 唐世蓉等. 植物学报, 1983, 25: 556
[36] Boar R B. Nat Prod Report, 1984, 53
[37] Connolly J D et al. Nat Prod Report, 1994, 91
[38] Connolly J D et al. Nat Prod Report, 1995, 609
[39] Connolly J D et al. Nat Prod Report, 1996, 151
[40] Connolly J D et al. Nat Prod Report, 1997, 661
[41] Connolly J D et al. Nat Prod Report, 2000, 463
[42] Tinto W F et al. Tetrahedron Lett, 1993, 34: 1705
[43] Kodama M et al. Tetrahedron Lett, 1997, 38: 4627
[44] 陈若芸等. 药学学报, 1990, 25: 940
[45] Bedir E et al. Biol Pharm Bull, 2000, 23: 834
[46] 姚新生主编. 天然药物化学. 第二版. 北京: 人民卫生出版社, 1997: 327
[47] 芮和恺等. 药学学报, 1981, 6: 445
[48] Kraus W et al. Tetrahedron Lett, 1985, 26: 6435
[49] Sawabe A et al. Carbohydr Res, 1999, 315: 142
[50] 张金生等. Planta Medica, 1980, 39: 265
[51] 张金生等. 化学学报, 1984, 42: 684
[52] Vanderroest J M et al. J Am Chem Soc, 1993, 115: 5841
[53] Grieco P A et al. J Am Chem Soc, 1994, 116: 7606
[54] Kitagawa I et al. Chem Pharm Bull, 1996, 44: 2009
[55] Fujioka T et al. J Nat Prod, 1994, 57: 243
[56] Zuco V et al. Cancer Lett, 2002, 175: 17
[57] Ye W et al. J Nat Prod, 1998, 61: 658
[58] Tanaka N et al. Chem Pharm Bull, 1982, 30: 3632
[59] Inatomi Y et al. Chem Pharm Bull, 2000, 48: 1930
[60] Mahato S B et al. Phytochem, 1994, 37: 1517
[61] Kalinovskii A I. Chem Nat Compd (Engl Transl), 1992, 28: 1
[62] Agrawal P K et al. Prog Nucl Magn Reson Spectrosc. 1992, 24: 1
[63] Ageta H et al. Chem Pharm Bull, 1994, 42: 39
[64] Chakravarty A K et al. Tetrahedron, 1994, 50: 2865
[65] 左国营等. 有机化学, 1997, 17: 385
[66] 孔繁华等. 化学学报, 1988, 46: 409, 972
[67] Tanaka O et al. Chem Pharm Bull, 1966, 14: 1150
[68] Zhang Z Z et al. J Nat Prod, 1999, 62: 740
[69] Zhang Z et al. Phytochem, 1999, 52: 715
[70] Zhang Z et al. J Nat Prod, 1999, 62: 877
[71] Zhang Z Z et al. Chem Pharm Bull, 1999, 47: 388
[72] Nigam S K et al. Phytochem, 1997, 44: 1329
[73] Yoshikawa K et al. J Nat Prod, 1997, 60: 1269
[74] 赵维民. 中国科学院上海药物研究所博士毕业论文, 1995
[75] Techesche R et al. Ber, 1935, 68: 1412; 1936, 69: 797

[76] Kon G A et al. J Chem Soc, 1937, 414; 1939, 794
[77] Scheer I et al. J Am Chem Soc, 1953, 75: 4871
[78] Marker R E et al. J Am Chem Soc, 1939, 61: 3592; 1940, 62: 518, 648, 898, 2532
[79] Gould D H et al. J Am Chem Soc, 1952, 74: 3685
[80] Rolandeddy C et al. Anal Chem, 1953, 25: 266
[81] Jones R N et al. J Am Chem Soc, 1953, 75: 158
[82] Djerassi C et al. Org Mass Spectr, 1970, 3: 1187
[83] Williams D H et al. Tetrahedron, 1965, 21: 1841
[84] Garcia J A R et al. Magn Reson Chem, 1987, 25: 831
[85] 杨仁洲等. 云南植物研究, 1987, 9: 374
[86] Agrawal P K et al. Phytochem, 1985, 24: 2479
[87] 刘承来等. 植物学报, 1984, 26: 283
[88] 方一韦等. 药学学报, 1982, 17: 388
[89] 刘承来等. 药学学报, 1984, 19: 799
[90] Kimura M et al. Chem Pharm Bull, 1968, 16: 25
[91] Tade A et al. Chem Pharm Bull, 1972, 20: 1729
[92] 刘承来等. 植物学报, 1985, 27: 68
[93] Konishi T et al. Chem Pharm Bull, 1979, 27: 3086
[94] Hirai Y et al. Chem PharmBull, 1982, 30: 3476
[95] 张剑波等. 有机化学, 2000, 20: 663
[96] Saijo R et al. Phytochem, 1983, 22: 733

（赵维民）

第十一章　氨基酸、肽、蛋白质

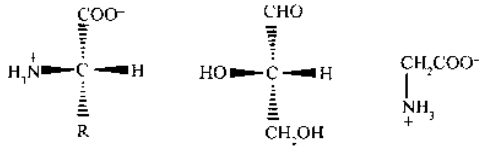
在生命活动中有三类物质起着重要作用，即多糖、蛋白质和核酸。从化学上讲这三类物质都是高聚物。在这三类生物高分子中，蛋白质最具生理活性多样性。它存在于所有细胞中，是生物体各种组织如皮肤、肌肉、骨骼、神经和血液等的重要组成物质。作为酶和激素的蛋白质，它们催化和调节机体内的众多反应；作为抗体，它又能抵御病菌的侵入。各种不同蛋白质又各具特殊功能，如血红蛋白，它可将维持生命的最重要物质氧送到机体各个角落。

蛋白质(protein)源于希腊文 proteios，意即最重要、最原始。蛋白质是多聚酰胺，是由氨基酸组成的。组成蛋白质的氨基酸通常有 20 种，称之为天然氨基酸，都为 L-型 α-氨基酸。蛋白质是复杂的生物高分子，相对分子质量通常都在 10 000 以上，如胰岛素的相对分子质量为 6000，但它的二聚体的相对分子质量为 12 000，同时具有复杂的高级结构，所以胰岛素可视为最小的蛋白质。从结构上讲，肽与蛋白质没有什么区别，肽也是由氨基酸以酰胺键组成，也同样具有较稳定的空间结构，只不过分子较蛋白质小。肽也具有多样的和复杂的生理功能。它在生物体内传递信息、调节细胞代谢活动和协调各机体的生理过程，在生命活动中起着非常重要的作用。

第一节　氨　基　酸

一、结构与分类

表 11-1 所列的 20 种氨基酸为构成蛋白质的氨基酸，称之为蛋白质组分氨基酸，也即通常意义上的天然氨基酸。它们都是 α-氨基酸。按照所含侧链 R 基团的性质不同，又分为中性、酸性和碱性三类。其中除甘氨酸外，它们的 α-碳原子都为 L 构型，即与 L-甘油醛有同样构型。

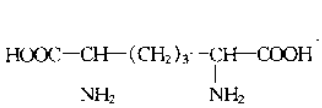


L-氨基酸　　L-甘油醛　　甘氨酸

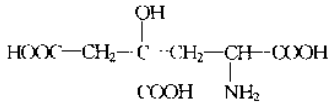
按照 Cahn-Ingold-Prelog 规则，α-氨基酸中侧链基团 R 都较 COOH 的优先性较低。因此，通常大多数 L-氨基酸也即为 S 构型。

迄今为止，在天然蛋白质中只发现 L 型氨基酸，但是在自然界也发现了 D 型氨基酸，如在哺乳动物的前脑中发现有 D-丝氨酸，而在神经末梢存在 D-门冬氨酸[1]。在低等的非脊椎动物如两栖类动物，蛙、喇蛄及龙虾中都发现有 D 型氨基酸。其中，最具重要意义的是 1981 年在蛙皮肽(dermorphin)中发现 D-Ala[2]。同样，在海洋生物和微生物中都发现 D 型氨基酸的存在，如在缬氨霉素(valinomycin)、tyrocidine、短杆菌肽(gramicidine S)等中都发现 D-氨基酸[1]。

除了蛋白质氨基酸之外，还存在非蛋白质组分氨基酸。由于生物体内缺乏特异的转移 RNA 和三联密码，这些氨基酸不能直接用于合成蛋白质，也不能由蛋白质氨基酸通过翻译后修饰(post translational modification)产生。因此，这些氨基酸未能在蛋白质链中发现。非蛋白质氨基酸的结构是多变的，分布也非常广泛，从植物中发现的非蛋白质氨基酸有 240 多种[3]，大多数是多官能饱和脂肪族氨基酸，如 2,6-二氨基庚二酸(2,6-diaminopimelic acid，**1**)为碱性氨基酸，而 4-羧基-4-羟基-2-氨基己二酸(**2**)则为酸性氨基酸。



1

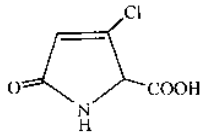


2

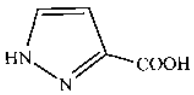
表 11-1　天然氨基酸

侧链 R 的结构	名称	缩写	pK_{a1}(α-COOH)	pK_{a2}(α-NH_3)	pK_{a3}(RGROUP)	pI
中性氨基酸						
—H	甘氨酸(glycine)	G or Gly	2.3	9.6		6.0
—CH_3	丙氨酸(alanine)	A or Ala	2.3	9.7		6.0
—$CH(CH_3)_2$	缬氨酸(valine)	V or Val	2.3	9.6		6.0
—$CH_2CH(CH_3)_2$	亮氨酸(leucine)	L or Leu	2.4	9.6		6.0
—$CHCH_3CH_2CH_3$	异亮氨酸(isoleucine)	I or Ile	2.4	9.7		6.1
—$CH_2C_6H_5$	苯丙氨酸(phenylalanine)	F or Phe	1.8	9.1		5.5
—CH_2CONH_2	门冬酰胺(asparagine)	N or Asn	2.0	8.8		5.4
—$CH_2CH_2CONH_2$	谷酰胺(glutamine)	Q or Gln	2.2	9.1		5.7
—$CH_2C_8H_5NH$	色氨酸(tryptophane)	W or Trp	2.4	9.4		5.9
HOOC—$CHCH_2CH_2CH_2NH$	脯氨酸(proline)	P or Pro	2.0	10.6		6.3
—CH_2OH	丝氨酸(serine)	S or Ser	2.2	9.2		5.7
—$CHOHCH_3$	苏氨酸(threonine)	T or Thr	2.6	10.4		6.5
—CH_2—C_6H_4—OH	酪氨酸(tyrosine)	Y or Tyr	2.2	9.1	10.1	5.7
HOOC—$CHCH_2CHOHCH_2NH$	羟脯氨酸(hydroxyproline)	Hyp	1.9	9.7		6.5
—CH_2SH	半胱氨酸(cysteine)	C or Cys	1.7	10.8	8.3	5.0
—CH—S	胱氨酸(cystine)	Cys—Cys	1.6	7.9		5.1
—CH—S			2.3	9.9		
—$CH_2CH_2SCH_3$	甲硫氨酸(methionine)	M or Met	2.3	9.2		5.8
酸性氨基酸						
—CH_2COOH	门冬氨酸(aspartic acid)	D or Asp	2.1	9.8	3.9	3.0
—CH_2CH_2COOH	谷氨酸(glutamic acid)	E or Glu	2.2	9.7	4.3	3.2
碱性氨基酸						
—$CH_2CH_2CH_2CH_2NH_2$	赖氨酸(lysine)	K or Lys	2.2	9.0	10.5	9.8
—$CH_2CH_2CH_2NHCNHNH_2$	精氨酸(arginine)	R or Arg	2.2	9.0	12.5	10.8
—$CH_2C_3N_2H_3$	组氨酸(histidine)	H or His	1.8	9.2	6.0	7.6

除了链状的脂肪族氨基酸之外，还存在杂环氨基酸，如从真菌分离到的 3-chloro-5-keto-3,4-pyrrolidene-2-carboxylic acid (**3**)[4]。从海绵体(Sponge *Tedamia anhelans*)中分离得到咪唑衍生物 **4**[5]；从微生物(*Streptomyces* KCTC9303)中分离得到一种新的细胞毒亚氨酸 4-methylaeruginoic acid[6]。



3



4

非蛋白质氨基酸在植物中的广泛分布，如 β-丙氨酸与 γ-氨基丁酸(GABA)。可能是由于它们与蛋白质氨基酸及其他伯胺的代谢密切相关之故。

上述这些蛋白质氨基酸或非蛋白质氨基酸都是天然存在的。还有一类氨基酸完全是化学合成的，用来在结构上模拟天然氨基酸。用它们作为单元合成肽类化合物，能保持或增加生理功能，现在广泛地用于合成

肽类药物。其中有代表性的如萘基丙氨酸(naphthylalanine,Nal)、吡啶基丙氨酸(pyridyl alanine,Pal)、四氢异喹啉羧酸(1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-3-carboxylic acid,Tic)、噻吩基丙氨酸[β-(2-thienyl)alanine,Thi]及环己基丙氨酸(β-cyclohexylalanine,Cha)等。这些非天然氨基酸都被广泛地用于合成多肽药物,如促黄体激素释放激素(LHRH)的拮抗剂,一些酶如肾素(renin)及 HIV 中的蛋白水解酶的抑制剂。

二、氨基酸的物理性质

氨基酸含有碱性基团(—NH_2)和酸性基团(—CO_2H),在固体状态下是以两性离子(dipolar ion 或 zwitterion)存在,在水溶液中形成平衡.既可以作为酸,也可以作为碱;既可以是质子供体,又可以是质子受体。反应式如下:



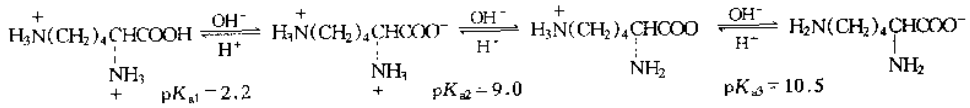
氨基酸的电离性质用 K_a值(或 pK_a值)表示,pK'_a为宏观的解离常数,可从滴定曲线中求得。pK_a 表示了相对的质子供给能力,每一种氨基酸的可解离基团都有一特定的 pK_a 值。习惯上将酸性最强的解离常数编号为 pK_{a1}、以后依次为 pK_{a2}、pK_{a3}等。通常 α-COOH 为最强的质子供给体,为 pK_{a1};β-COOH 为 pK_{a2},α-$^+NH_3$为 pK_{a3}。例如,天冬氨酸的 pK_{a1}为 2.10;pK_{a2}为 3.86; pK_{a3}为 9.83。

每一种氨基酸都有一个叫等电点(isoelectric point,pI)的介质 pH,此时氨基酸呈电中性,即由羧基解离产生的负电荷与处于完全质子化的基团(—$^+NH_3$)的正电荷平衡。此时分子仍处于解离状态,但净电荷等于零,在电场中不移动。例如,从甘氨酸的滴定曲线,可测得它的 pK_{a1}为 2.34,pK_{a2}为 9.69,因此它的 pI 值可用下式算出为 6.02。

$$pI = (pK_{a1} + pK_{a2})/2$$

对于一个分子中存在两个以上的解离基团(—COOH、—$^+NH_3$)的氨基酸,如 Asp、Glu、Lys 等,即有两个以上的 pK_a值时,其 pI 值应为在其两性离子附近的 pK_a的平均值。以 Lys 为例,其 pI 应为

$$\frac{pK_{a2}+pK_{a3}}{2}=\frac{9.0+10.5}{2}=9.8$$



两性离子

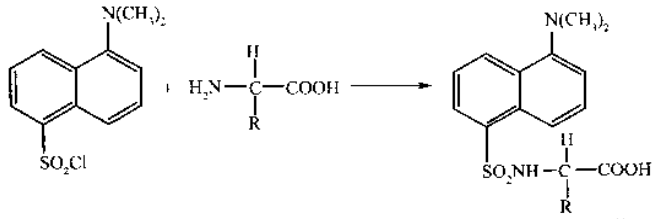
三、氨基酸的化学性质

氨基酸中所含有的基团,如氨基、羧基和侧链基团都能发生相应的化学反应,如羧基的离解,形成酯及酸的反应;氨基的酰化、卤化及重氮化等反应;侧链基团 R 则根据不同种类而有不同的反应。如半胱氨酸侧链 SH 的烷基化与氧化等。氨基酸的最重要性质是形成酰胺键合成肽(见下节)。

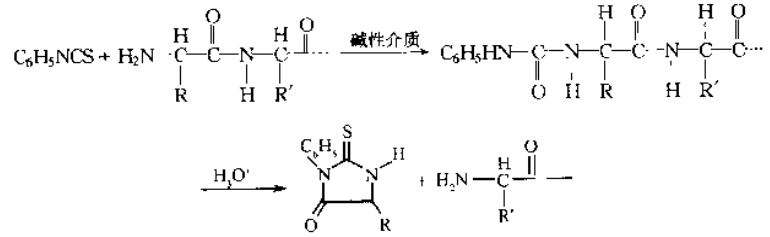
1. 酰化反应

在酸性条件下,酰卤与氨基酸反应得到 *O*-酰化物,在弱碱条件下,可得 *N*,O-二酰化物,而在强碱条件下只得到 *N*-酰化物。在碱性条件下,制备 *N*-酰化衍生物用以保护氨基是合成多肽的重要步骤(见下节)。

酰化反应也是鉴定氨基酸的方法之一。例如,氨基酸的氨基与丹磺酰氯(dansyl chloride,DNS-Cl)反应得到 DNS-氨基酸,产物的荧光很强,可用于氨基酸鉴定[7]。

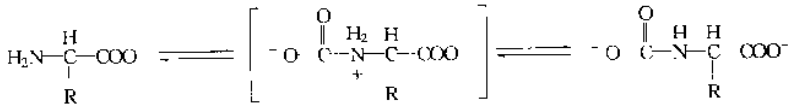


氨基酸与异硫氰酸苯酯(phenylisothiocyanate)能在温和碱性条件下发生酰化反应，再经强酸处理，即得很稳定的 PTH-氨基酸(3-phenyl-2-thiohydantoin-amino acid)。PTH-氨基酸可用各种层析法分离与鉴定，此方法称为 Edman 降解，它可从肽的 N 端逐一切下氨基酸，测定肽的顺序[7]。



2. 与 CO_2 反应[8,9]

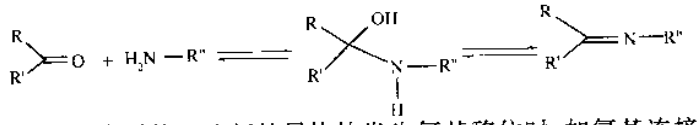
氨基酸中的氨基可和 CO_2 发生可逆反应，生成氨基甲酸盐：



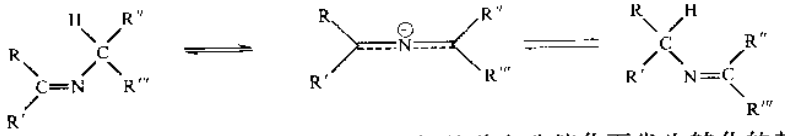
除了氨基酸的 α-氨基，其他位置的氨基，多肽和蛋白质的末端氨基均有形成氨基甲酸盐的可能，但是环上的亚氨基不与 CO_2 反应。

3. 席夫碱形成反应

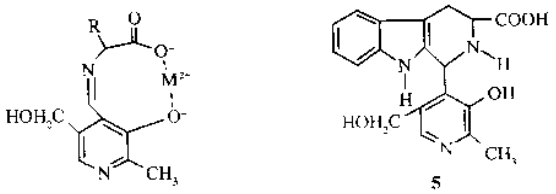
羰基与伯胺反应得席夫碱(Schiff base)，并由于 C═N 键的关系存在着几何异构体。



席夫碱在碱催化下会发生互变异构。这新的异构体发生氨基移位时，如氨基连接在手性碳上可导致氨基酸消旋化。



氨基酸与吡哆醛(pyridoxal)反应形成席夫碱，这是氨基酸在酶催化下发生转化的基础，其中包括转氨基、脱羧和消旋化等。反应需要有金属离子参与，如色氨酸与吡哆醛作用生成产物(**5**)[10]。这类氨基酸(包括胺类)与醛的缩合反应是生物碱的生物合成的重要途径。



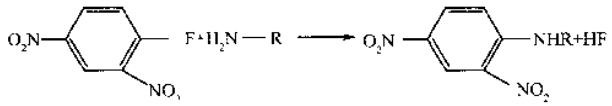
5

4. 烷基化反应

烷基化是使氨基酸和肽类降低极性，便于鉴定和分离的重要方法，同时也是制备衍生物增加分子多样性的重要手段之一。氨基酸中的氨基、羧基及侧链的巯基和羟基等都能发生烷基化。如碘乙酸与半胱氨酸的巯基反应，可用于研究蛋白质中的半胱氨酰基。反应式如下：

$$R—SH + ICH_2COOH \longrightarrow R—S—CH_2COOH + HI$$

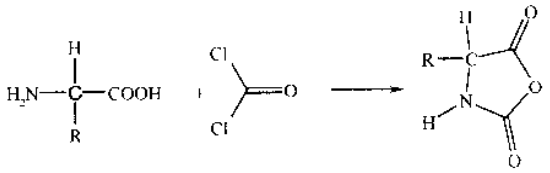
氨基酸的氨基在弱碱条件下与2,4-二硝基氟苯(DNFB)反应，生成黄色的二硝基苯氨基酸(DNP-氨基酸)。蛋白质与2,4-二硝基氟苯反应，然后用20%盐酸水解，其中 α-取代的DNP-氨基酸相当于蛋白质的N末端残基。其他的DNP-衍生物(如 ε-NH-DNP 赖氨酸、O-DNP 酪氨酸)则是链间氨基酸残基的衍生物。因此DNP衍生化反应可用于末端分析[7]。反应式如下：



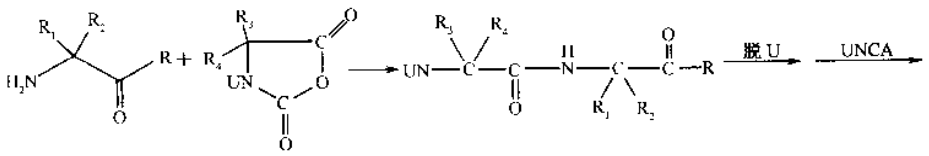
氨基酸的氨基发生烷基化是制备 *N*-烷基氨基酸的方法，而 *N*-烷基氨基酸在一些植物、海洋生物来源的蛋白质及多肽抗生素中广泛存在。如 cyclosporin 就富含 *N*-甲基氨基酸。*N*-烷基氨基酸现也广泛用于多肽类药物的合成。

5. 氨基与羧基共同参与的反应

氨基酸与光气反应生成 *N*-羧基酸酐(*N*-carboxy-anhydride，NCA，也称 Leuchs 酸酐)。反应式如下：



NCA具有相当的活泼性，因而能自身聚合成多肽，这也是早期合成聚肽的方法之一，但它生成的聚肽是无序的。近年来，Goodman 等[11]发展了用保护的 *N*-羧基酸酐 UNCA(主要为氨基甲酸酯保护基)作为原料合成肽的方法。此法具有操作简便，反应快速等优点，不但能用于液相法，也能用于固相法。反应式如下：



6. 与金属离子的作用

氨基酸与金属离子可以形成络合物，如 Na^+、K^+、Mg^{2+}、Ca^{2+} 和 Ba^{2+} 等。N上的孤对电子与金属络合后，氨基不再显示碱性，也就是说两性离子与金属离子络合而使溶液呈酸性。络合以后氨基酸在层析和电泳中的行为与游离态时差异很大。有的氨基酸可利用其金属络合物的不同溶解度进行分离纯化，甚至可用于拆分消旋体，如用铜络盐方法拆分 DL-天冬氨酸[12]。

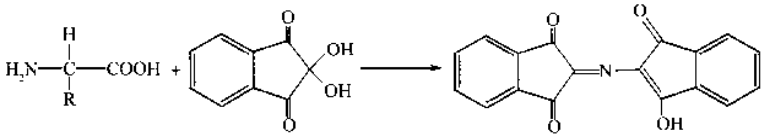
利用生成铜络盐，也可顺利进行 α-烷基化，如利用铜络盐由甘氨酸制备苏氨酸即是一例[13]。

四、氨基酸的分离分析

1. 颜色反应

天然产物中的氨基酸如果是以游离状态存在的，可直接用各种显色试剂显色鉴定。如是结合状态，则需水解后再用显色剂显色鉴定。用做氨基酸的显色剂很多，最重要和用途最广的是茚三酮(ninhydrin)。α-氨

基酸与之生成紫蓝色衍生物 **6**[14]。

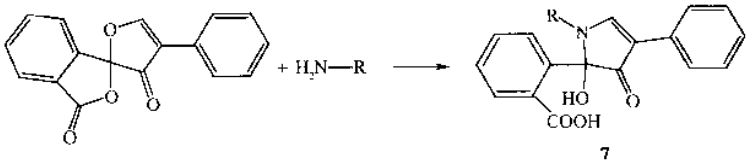


6

非蛋白质氨基酸，由于结构变化很大，与茚三酮反应所产生的颜色差别也大。茚三酮还可与伯胺、仲胺、寡肽和氨基醇等显色反应。但叔胺与芳香胺与之无反应。

茚三酮的显色反应除了与氨基酸结构有关外，还与溶液 pH 及金属离子等有关，如在显色剂中加入适量的金属离子（如 Ca^{2+}、Cu^{2+}），则可与不同氨基酸形成更有区别的颜色[15]。除了茚三酮之外，常用作氨基酸显色剂的还有吲哚醌（isatin），它与氨基酸反应的灵敏度不及茚三酮，显色也不稳定，但优点是对不同的氨基酸显示不同颜色，利于鉴别。

与氨基酸生成荧光产物的试剂有荧光胺（fluorescamine），它与氨基酸反应的荧光产物 **7**（Ex 390nm，Ex 475nm）很容易检测。



7

其他可用作氨基显色的试剂见表 11-2 所示。

表 11-2　可用做氨基显色的试剂

反应名称	试剂	颜色	氨基酸
坂口反应 (Sakaguchi reaction)	α-萘酚和次氯酸钠	红	精氨酸及其他含胍基化合物
硝普盐反应 (Nitroprusside reaction)	亚硝基铁氰化钠稀氨水溶液	红	半胱氨酸及其他巯基化合物
萨利文反应 (Sullivan reaction)	1,2-萘醌-4-磺酸钠和亚硫酸钠	红	半胱氨酸
波利反应 (Pauly reaction)	偶氮磺酸的碱性溶液	红	酪氨酸，组氨酸及其他异咪唑化合物
埃利希反应 (Ehrlich reaction)	二甲氨基苯甲醛的浓盐酸溶液	蓝	色氨酸及其他含吲哚环化合物
霍普金斯-柯尔反应 (Hopkins-Cole reaction)	乙醛酸和浓硫酸	红紫	色氨酸及其他含吲哚环化合物
福林-乔卡梯奥反应 (Folin-Ciocalteau reaction)	磷钼钨酸	蓝	酪氨酸
米隆反应 (Millon reaction)	浓硝酸的硝酸亚汞和硝酸汞溶液	红	酪氨酸及其他酚类化合物
黄色蛋白反应 (xanthoproteic reaction)	浓硝酸	黄	苯丙氨酸，色氨酸和酪氨酸
邻苯二醛反应 (phthalaldehyde reaction)	邻苯二醛的乙醇溶液	黑绿色	甘氨酸

2. 分离分析技术

可用于氨基酸的分离分析技术很多，早期常用的方法，如纸层析与纸电泳都曾被广泛应用过，但由于其分离效果不理想（如纸层析）或操作较复杂（如纸电泳）现在均不常用。现今最常用的方法为薄层层析，以硅胶、纤维素或聚酰胺为支撑体。

薄层层析分离氨基酸的原理通常为分配层析（partition chromatography）和吸附层析（adsorption chromatography）。分配层析又有正相（normal phase）与反相（reversed phase）之别。

在正相分配层析中作为固定相的是支撑物中（如硅胶或纤维素）溶剂化的 OH 基团，它的极性较大，而移动相则为极性较小的溶剂。欲分离的氨基酸混合物在两种极性不同的介质中的分配系数不同，因而达到分

离目的。极性较小的氨基酸如亮氨酸、异亮氨酸等移动较快，而极性大的氨基酸如谷氨酸、天冬氨酸则移动较慢。反相薄层层析(RP-TLC)则是以烷基化的硅胶作为支撑体，因而氨基酸的分配行为正好相反。

吸附层析的原理则不同，它取决于不同物质在吸附剂(支撑物)上的吸着能力。通常用去除水分的预制硅胶板，移动相可以是一元或二元组分的有机溶剂。这样吸着能力小的组分最先被移置，而随移动相发展。

在各种薄层层析中，氨基酸可用各种显色剂检定，常用的有茚三酮，而对于含芳基的氨基酸(如 Phe、Tyr 和 Trp 等)也可用紫外吸收检测。

实现氨基酸定量分析的方法很多，自 1958 年 Moore 和 Stein 用离子交换层析(IEC)进行氨基酸定量分析以来，氨基酸的分析技术迅速发展，除了离子交换层析之外，利用气相层析(GLC)，高效液相层析(HPLC)及反相高效液相层析(RP-HPLC)等的氨基酸分析技术都取得了长足发展，但目前氨基酸分析仍以 IEC 为主。以茚三酮作柱后衍生检测的氨基酸分析仪得到不断改进，在速度和灵敏度上都有很大提高。采取减小树脂粒度、增大柱压，将多级淋洗变为梯度淋洗，同时在仪器的自动化、电脑化上都有很大提高，从原来分析一个蛋白质水解液需要一天，进展到只需 0.5h，灵敏度能达到皮摩尔级[15]。

3. 红外光谱[16]

氨基酸通常以两性离子形式存在，也可能以盐酸盐，金属盐形式存在。分子中既可以有游离的$-NH_2$、$-COOH$，也可以有解离的$-^{+}NH_3$、$-COO^{-}$。

当氨基酸呈游离状态或成盐酸盐时，其氨基都以 $-^{+}NH_3$ 形式存在，在胺类正常的 NH 伸缩振动吸收范围内(3500～3300 cm^{-1})不出现吸收峰，而在 3030～3130 cm^{-1}(3.30～3.20μm)之间出现一个峰(m)，它是$-^{+}NH_3$ 不对称伸缩振动形式产生的吸收(脯氨酸例外，$-^{+}NH_3$ 在～2900 cm^{-1})。对称伸缩振动可能在 3000～2000 cm^{-1}之间出现。氨基酸的金属盐一般在 3390～3260 cm^{-1}(2.95～3.07μm)有中等强度的$-NH_2$ 吸收。羧基成酯后则此吸收向低频移动。以上吸收峰一般都是宽峰。

$-^{+}NH_3$ 在 1660～1485 cm^{-1}范围内可能出现 1～2 个特征峰，在 1660～1610 cm^{-1}(W)为不对称变角振动吸收，由于此峰常与$-COO^{-}$ 吸收峰重叠，故常以$-COO^{-}$ 主峰上的肩峰出现，第二个特征峰出现在 1550～1485 cm^{-1}(6.45～6.73μm)，为对称变角振动吸收。

当$-NH_2$ 上取代烷基后，—NH 的伸缩振动在 3500～3300 cm^{-1}处出现，如 *N*-甲基甘氨酸。

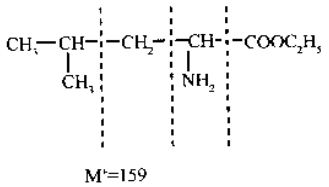
$-NH_2$ 与—COOH 之间的碳原子数似乎并不影响氨基酸成为两性离子形式，如 $H_2N(CH_2)_{10}COOH$ 中依然存在$-NH_3^{+}$ 吸收峰。

游离氨基酸及其金属盐的$-COO^{-}$ 在 1600～1560 cm^{-1}(6.25～6.41μm)有强吸收。当氨基酸成盐酸盐后，—COOH 具有正常的伸缩振动特征吸收，其峰的位置与$-NH_2$ 的取代位置有关，α—NH_2 的 υ_{co}在 1750～1740 cm^{-1}，其余的在 1730～1700 cm^{-1}范围内。

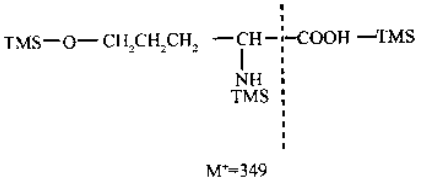
为了从红外光谱进一步鉴别一天然产物是否为氨基酸，常将其制成盐酸盐和金属盐以进一步观察—NH、$-COO^{-}$及 >C=O 的吸收峰位置的改变。二羧基一氨基的氨基酸，IR 中除有$-COO^{-}$和 $-^{+}NH_3$ 吸收外，还显示了一个 >C=O 吸收峰，二氨基一羧基氨基酸则还出现$-NH_2$ 吸收峰。

4. 质谱

氨基酸的质谱对决定多肽和蛋白质的结构至关重要，但由于游离氨基酸极性较强，因此在电子轰击条件下的分子离子峰很弱，甚至不出现[17]。一些能增加挥发性的衍生物都曾用于氨基酸的质谱研究[18]，如乙酰化和三甲基硅烷化等



M^{+}=159



M^{+}=349

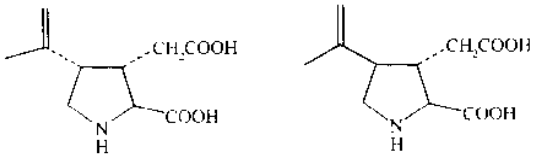
利用质谱还可能确定氨基酸的绝对构形，用 Marfey 方法将氨基酸与 FDAA(1-氟，2，4-二硝基苯基-5-L-丙氨酸酰胺)衍生化，用 LC-MS 可测定氨基酸的构型[19]。

由于质谱具有用量少的特点，加上近年来电离技术的改进，使它在多肽和蛋白质的结构测定中被广泛应用[20]。质子化氨基酸离子可通过化学电离(CI)、场解析(FD)、快原子轰击(FAB)等产生，特别是 20 世纪 80 年代末发展的电喷雾电离(ESI)和基质辅助的激光解析电离(matrix assisted laser desorption ionization，MALDI)极大地推进了多肽和蛋白质分子的结构分析(详细例证见蛋白质节)。

5．氨基酸结构研究实例

(1)海人草酸的结构研究及其合成[21]

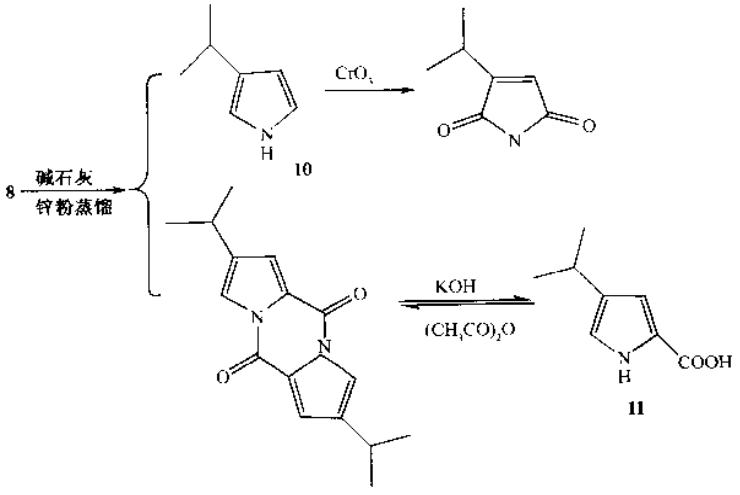
海人草酸(kainic acid，**8**)原先是从一种红藻(*Digenea simplex* Ag.)中分离得到。我国从另一种藻类植物鹧鸪菜(*Caloglossa leprieurii* Ag.)中也分离得到了同样成分。海人草酸的驱蛔效果是山道年的 10 倍，同时它还具有神经毒作用。在分去海人草酸的母液后尚有一种微量氨基酸异海人草酸(α-allokainic acid，**9**)存在。



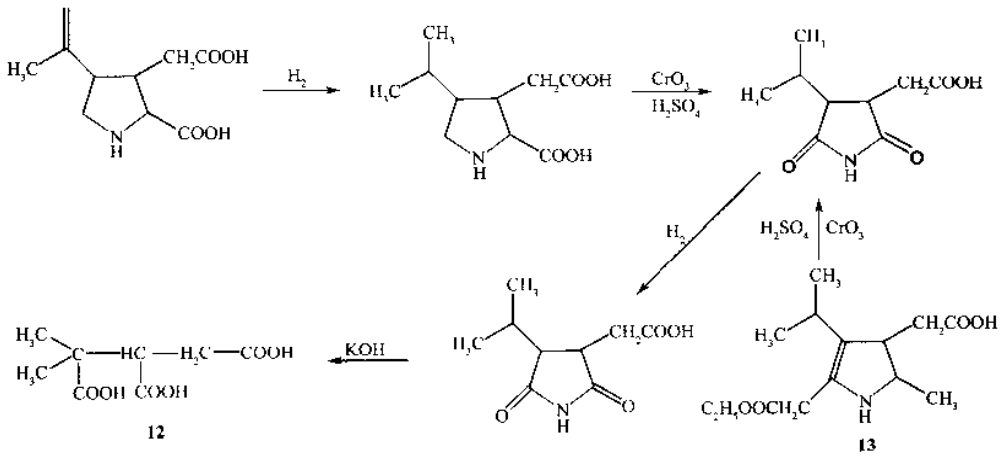
8　　**9**

海人草酸的结构是 1955 年前后用化学方法推定的，之后又经全合成和 X 射线衍射证明[22]。其分子式为 $C_{10}H_{15}O_4N\cdot H_2O$(EtOH)，熔点 253～254℃(d)，$[\alpha]_D^{24}-14.8°$($c$1，$H_2O$)，与茚三酮反应呈黄色，$FeCl_3$ 试验呈黄棕色。

1)平面结构的推定。从元素分析、衍生物制备和 IR 中知道其结构中含有一个—NH、两个—COOH 和一个末端双键。从碱石灰和锌粉蒸馏实验中得到异丙基吡咯(**10**)和异丙基吡咯酸(**11**)，以后又以合成方法确定了化合物 **10** 和 **11** 结构，由此推测海人草酸具有 2-羧基-4-异丙基吡咯烷的母核。

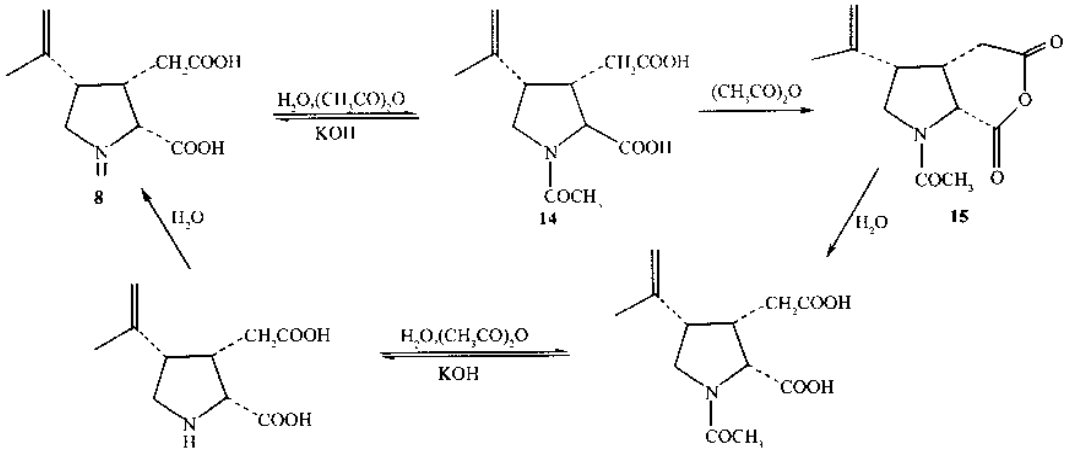


化合物 **8** 用 O_3 氧化检出有甲醛存在，氧化产物碘仿反应呈阳性。说明其具有 $CH_2=(CCH_3)R$ 部分结构。乙酸基的位置当时用两次 Hofman 降解的产物来确定接在 3 位。然后用下列反应及合成降解产物 **12**、**13** 进一步证明平面结构。

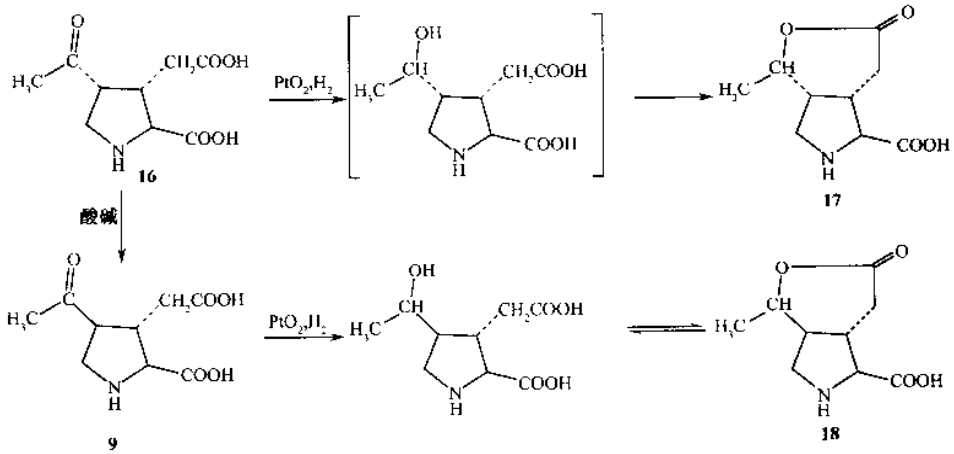


2)立体结构研究。2-COOH 的构型用 Lutz 规则确定为 L-氨基酸。

化合物 **8** 用乙酐乙酰化得化合物 **14**。假如乙酰化时加热则得化合物 **15**，$[\alpha]_D^{16}+36.4°$（c 0.411，苯）。由于 α-羧基构型反转而与 3-乙酸基成顺式，易成酐 **15**。

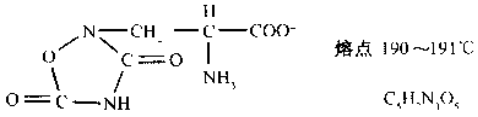


化合物 **8** 经 O_3 氧化得甲基酮 **16**，然后将羰基还原成羟基，很易于得到内酯化合物 **17**，但如果将化合物 **16** 用酸碱处理，得到化合物 **9** 的甲基酮，同样将羰基还原成羟基，却难于得到内酯化合物 **18**，这说明海人草酸的乙酸基与异丙基为顺式，而异海人草酸为反式。



(2)使君子氨酸的结构研究与合成

使君子为使君子科植物使君子(*Quisqualis indica* L.)的种子,我国民间早就作为驱蛔虫药广泛应用,并于1948年从中分得使君子氨酸钾盐(potassium quisqualate)[23],经药理和临床试验证明为使君子驱虫有效成分[24]。后来又测定了使君子氨酸(quisqualic acid,**19**)的结构并进行了合成[25,26]。日本学者也进行了使君子氨酸的提取、结构和合成工作[27]。

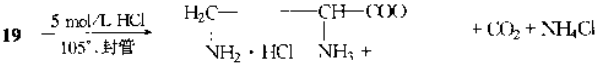


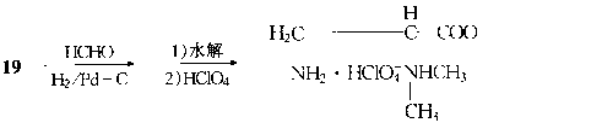
19

使君子氨酸纸层析遇茚三酮呈污黄色至紫红色,遇吲哚醌呈咖啡色。纸上电泳时向正极方向移动,因而推断为酸性氨基酸。电位滴定法测得其解离常数为 pK_{a1} 2.26、pK_{a2} 4.17、pK_{a3} 8.8。这也说明除羧基、氨基之外还有一酸性基团。

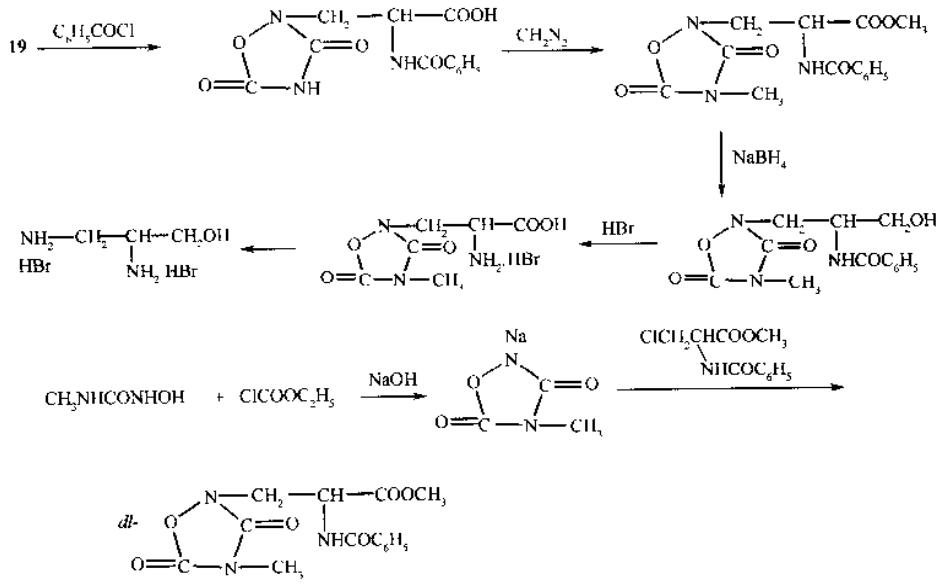
使君子氨基的IR显示氨基酸的特征吸收:$\nu_{NH}(NH_3^+)$,3000 cm^{-1}、2860 cm^{-1}、2740 cm^{-1};$\delta_{as}(NH_3^+)$1614 cm^{-1};$\delta_s(NH_3^+)$1500 cm^{-1};ν_{COO^-} 1630 cm^{-1};ν_{CO} 1755 cm^{-1}、1785 cm^{-1}。钾盐的IR为 $\nu_{NH}(NH_2)$3120 cm^{-1};ν_{COO^-} 1580 cm^{-1}。NMR中可以确定羧基 α,β-位的质子信号,δ 4.60(d,2H,β-CH_2)、4.76(t,1H,α-CH)。

使君子氨酸的结构骨架和基团排布是根据下列化学降解方法确定的。从所得产物DL-α,β-二氨基-丙酸盐酸盐和DL-α-二甲氨基-β-氨基-丙酸过氯酸盐来看,使君子氨酸为 α-氨基酸,α-碳原子上有一个氢,β-碳原子上有两个氢同时连有一氮原子。这与上述NMR数据也是符合的。降解产物结构还可用合成方法确定。



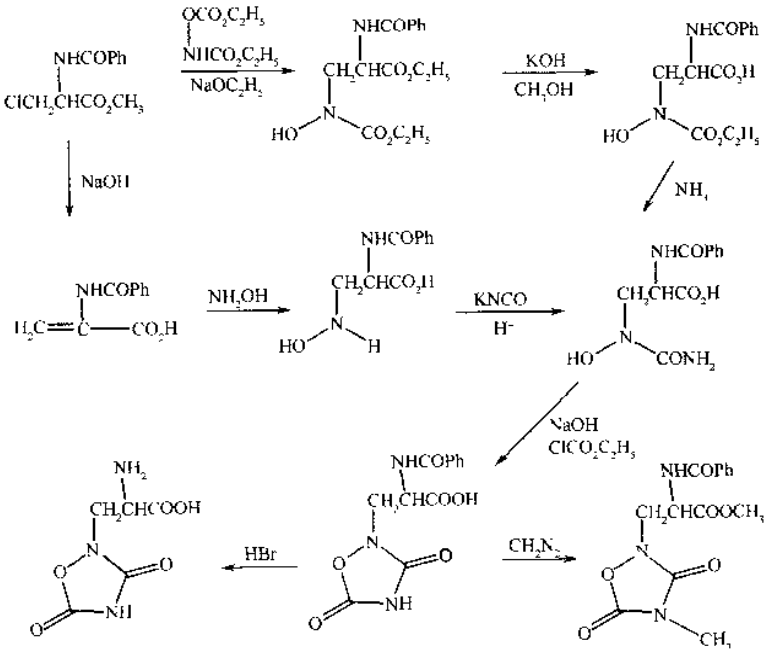


将使君子氨酸用苯甲酰氯酰化,再与重氮甲烷作用,官能团分析表明有一氮甲基生成,说明另一酸性基团为—NH,人们推测 β-碳原子上接有3,5-二氧-1,2,4-噁唑烷基。对以下一系列反应产物的分析,说明这一推测是正确的。其中产物 N^4-苯甲酰-N^4-甲基使君子氨酸甲酯可进一步用合成方法证明。



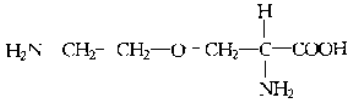
根据使君子氨酸的旋光度：$[\alpha]_D^{24}$ 0°(*c* 1.25, H_2O)，$[\alpha]_D^{24}$ + 10.4°(*c* 9.05, 1 mol/L HCl)。按 Clough-Lutz-Jirgensons 规则，推定其构型为 L 型。因此使君子氨酸的结构为 L-β-(3,5-二氧代-1,2,4-噁二唑烷基-2)-丙氨酸。

在合成 N^4-苯甲酰-N^4-甲基使君子氨酸甲酯的基础上，进而将 DL-β-(3,5-二氧代-1,2,4-噁二唑烷基-2)-α-苯甲酰氨基丙酸在丙酮水溶液中用马钱子碱(brucine)拆分为一对对映体 L-和 D-异构体，然后分别用氢溴酸水解，得 L-使君子氨酸和 D-使君子氨酸。以下为合成路线[28]：



(3)L-4-氧代赖氨酸的结构研究与合成[29]

从玫瑰绿褐链霉菌新种(*Streptomyces roseoviridofuscus* sp.)产生的一种氨基酸，在肿瘤筛选中发现对多种实验动物肿瘤有明显抑制作用，并有保肝和改善慢性肝炎患者肝功能的效果。后来经光谱方法和化学合成证明其结构为 L-4-氧代赖氨酸(L-4-oxalysine)(**20**)。Tesser 等也曾从教酒链霉菌(*S. chartreasis* MA-2856)和红色产色链霉菌(*S. erythrochromogenes* MA-2872)中分离得到此氨基酸[30]。



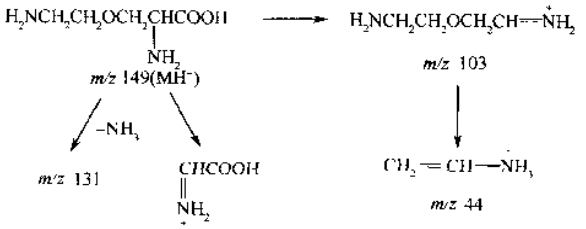
20

游离的 4-氧代赖氨酸分子式 $C_5H_{12}N_2O_3$，熔点 159～160℃，IR：3440～3355(NH_2)，3100～2620，1650($^+NH_3$)，1610～1590，1410(—COO^-)，1120(—O^-)cm^{-1}，它具有典型的氨基酸吸收峰，其盐酸盐，熔点 221～222 ℃(d)，O.R.D. 225 μm，$[\phi]$ = + 1.582°，IR：3060～2880，1620($^+NH_3$)，1590～1420(—COO^-)，1130～1095(—O^-)cm^{-1}。在酸性缓冲液中电泳，此氨基酸移向阴极，且与赖氨酸有相同的泳距。其苯甲酰化物为 $C_{19}H_{20}N_2O_5$，说明它连有两个苯甲酰基。

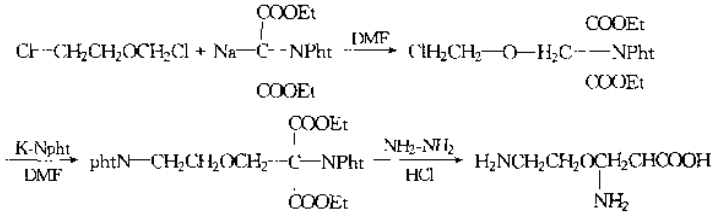
此氨基酸的 MS(*m*/*z*)，149(MH^+)，131，129，119，111，106，103，89，74，44。其裂片情况可做如下解释。见下页：

苯甲酰化物的 NMR δ(CF_3COOH)数据可做如下解释：3.52(m, 4H, —CH_2—CH_2—)；3.80(d, 2H, —O—CH_2—)；4.78(m, 1H, α-CH)；8.08(m, 1H, —NH—COC_6H_5)；7.38(d, 1H, —NH—COC_6H_5)；7.12(m, 5H, —COC_6H_5)；6.94(m, 5H, —COC_6H_5)。

此氨基酸在 0.1 mol/L 盐酸中 ORD 显正 Cotton 效应，表明其绝对构型为 L 型。



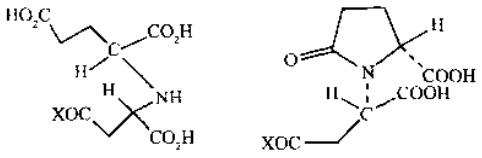
此结构最后用合成方法证明，反应中选用酞酰亚胺钾(potassium phthalimide, K-NPht)作为氨基化试剂。



20

(4)琥珀酰胺氨酸的结构研究[31]

Agrobacterium fumefaciens 菌株可使烟草根瘤产生一种新的亚氨基酸——琥珀酰胺氨酸(succinamopine, **21**)。这一成分在酸性条件下极易内酰胺化(lactamization)。**21** 在 pH=2 时室温放置几天就变成琥珀酰胺氨酸的内酰胺(**23**)，如果提高温度则更进一步变成琥珀酸氨酸内酰胺(succinopine lactam, **24**)。因此这三个化合物的结构是被同时进行研究的。



21 X=NH_2　　**23** X=NH_2

22 X=OH　　**24** X=OH

21 对茚三酮反应呈阴性，它可用溴甲酚绿、硝酸银-甘露糖醇、硫氰酸铁等试剂测定。这些试剂对其内酰胺的灵敏度稍差。

21 和 **22** 对次氯酸盐-联甲苯胺试验呈阳性，这说明结构中存在 >NH 。用电位滴定测得解离常数 $pK_{a1}=2.3$, $pK_{a2}=4.7$, $pK_{a3}=4.7$。这说明它存在二个羧基；在 pH 1.8 时电泳，向阳极移动很少，这也说明可能存在二羧酸亚胺结构。

化合物 **23** 的 NMR 有两组峰，其中一组为 δ 2.98(d)和 4.88(t)，积分比为 2:1；另一组为 δ 2.48 和 4.55(m)，积分比为 4:1。其中 δ 4.88 推测为氨基酸或 *N*-酰基氨基酸的 α-H 信号，这是天冬氨酰的 α-H。δ 4.55属于谷氨酰的 α-H，由于受到另外四个质子的偶合而呈多重峰。**24** 经甲基化后，在 NMR 中出现 δ 3.51(s,3H)和 3.58(s,6H)，即有三个甲氧基，说明 **23** 中存在三个可酯化的羧基。

化合物 **24** 的三甲酯，在 CCl_4 中测定其 NMR，提供如下结构信息：2.20(2H,m,谷氨酰 β,γ-H)，2.80(2H,d,J = 6 天冬酰 β,β'-H)，3.54(3H,s,—OCH_3)，3.60(6H,s,$OCH_3\times2$)，4.30(1H,m,谷氨酰 α-H)，4.85(1H,t,J=6,天冬酰 α-H)。在 IR 中，可见 1745 cm^{-1}(s,ν_{COOR})，1705cm^{-1}(叔 γ-内酰胺)，3000 cm^{-1}(NH 或 OH)。

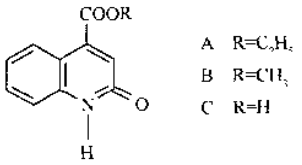
用 FAB-MS 测定化合物 **21**，显示最强峰 245(M+H)，以及比较弱的 262(M+NH_4^+)和 489(2M+H)，并含有很弱的 **24** 的相应峰。测得 **21** 的分子离子峰为 **262**，而 **24** 的三乙酯的分子离子峰高分辨率 MS 为 329.1464，完全符合其分子式 $C_{15}H_{23}NO_3$，从中可找到其主要的碎片峰，如失乙氧基峰(m/z 284)、失乙酯基(carbethoxyl, m/z 256)。

化合物 **23** 的绝对构型测定，参照天冬氨酰基和谷氨酰基的手性中心结构进行推测，天然的琥珀酸氨酸内酰胺(**24**)应该具有(*R*)-谷氨酰基和(*S*)-天冬氨酰基。**24** 的 CD 测定完全证明这一点，由于谷氨酰胺和它的 *N*-取代衍生物在 215 nm 处有很强的 n →π* 跃迁，其椭圆率取决于手性中心邻位的羧基的解离程度，其绝对值羧基解离的要比不解离的大。如 **24** 的[ϕ]，pH = 1 时为 − 6.0，pH = 5 时为 − 29.3，pH = 10 时为 − 46.3。**24** 中的谷氨酰基手性中心为 *R*。

最后 **21** 的结构用合成方法确证。将 α-氧代谷氨酸(α-ketoglutamic acid)和(*S*)-天冬氨酸在 NaOH 和氰硼氢钠作用下缩合得琥珀酰胺氨酸的对映体和琥珀酸氨酸(succinopine，**22**)。此对映体在 pH = 2.8 时可用电泳勉强分开。由于合成 **21**、**23** 和 **24** 所得的对映体其 pK_{a1} 比 pK_{a2} 有更大的区别，因此可利用甲酸调节的方法来分别合成之。如在 3.5 mol/L 甲酸条件形成异琥珀酸氨酸内酰胺，而在 4.8 mol/L 甲酸时形成的则是琥珀酸氨酸内酰胺。

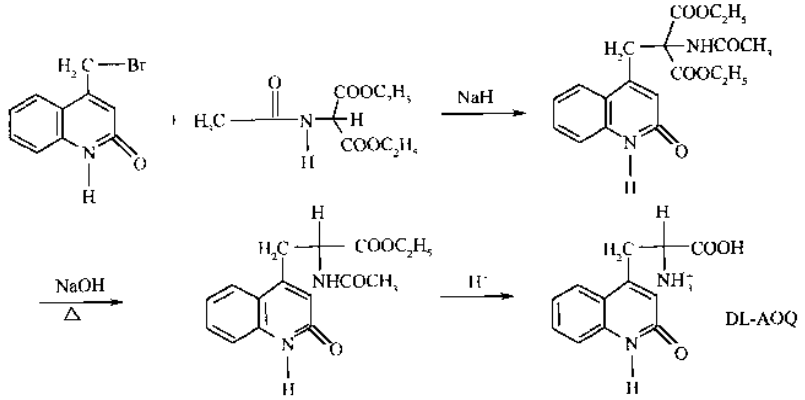
(5)1,2-二氢-α-氧代喹啉-4-羧酸酯的结构研究及合成

周维善等曾报道从葡萄科植物爬山虎[*Parchenocissus tricuspidata* (Sieb et zuce) Planch]果实中分离得到两种结晶化合物[32]：



两者的紫外光谱与红外光谱均表明有羰基吸收。红外光谱除了羧酸酯(C═O，1729 cm^{-1})外，还有酰胺吸收(C═O，1660 cm^{-1})。$CDCl_3$ 中的 ^{1}H-NMR 测定结果如下：XA 1.46 (3H，t，J = 7 Hz)，4.50(2H，q，J = 7 Hz)，7.28(1H，s)，7.32～8.4(4H，m)，12.5(1H，br.)。δ 12.5 的 H 可被重水交换。质谱测得 XA 的分子离子峰 M^+ 为 217，XB 为 203。上述分析数据及测得的熔点，表明 XA 与 XB 为同系物，推断为 1,2-二氢-2-氧代喹啉-4-羧酸的乙酯及甲酯，因此抽提过程中用乙醇盐酸或甲醇盐酸处理，故得到羧酸乙酯与甲酯，原植物成分应以羧酸(XC)存在。这与 H. Schmid[33]等报道从罂粟(*Papaver Somniferum* L.)中提取得到的 1,2-二氢-2-氧代喹啉-4-羧酸的结构是一致的。

1,2-二氢-2-氧代喹啉-4-羧酸乙酯具促眠作用[34]。叶蕴华等[35]据此合成了一种新的非天然氨基酸，α-氨基-β-[4-(1,2-二氢-2-氧代喹啉)]丙酸，AOQ，表明 AOQ 也同样具促眠活性。



第二节 肽

肽和蛋白质都是重要的生命基础物质。从结构上看它们是相同的，都是由氨基酸以酰胺键连接而成。构成多肽与蛋白质的氨基酸通常为 α-氨基酸，约二十种，都是 L 型，只有在微生物代谢产物、植物及极个别低等动物来源的多肽中存在非天然的 D 型氨基酸。

多肽与蛋白质在基本结构上是没有区别的，只是分子大小的不同。现在习惯的区分是将相对分子质量

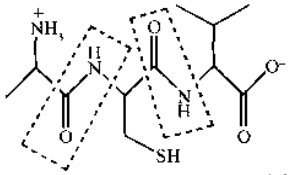
10 000以下的(即约含100个氨基酸残基结构单元)称作肽,而大于此值则为蛋白质。另外,由于蛋白质的分子较大,因此,分子内部各种能稳定结构的因素(如氢键、盐键等各种次级键及芳香基团间的相互作用等)明显大于多肽,蛋白质比多肽具有更稳定和更复杂的高级结构。

肽和蛋白质在生命科学、生物医学及内分泌学中占有非常重要的地位。举凡细胞分化、免疫防御、肿瘤病变、抗御衰老与生殖控制等生理活动无不与多肽密切相关。许多天然和合成的多肽在生物医药中的应用是人们熟知的。例如,胰岛素用于治疗糖尿病、调钙素用于骨质疏松症、促黄体激素释放激素对于生殖系统疾病及一些多肽类抗菌素如Bleomycin对于肿瘤抑制等,都说明了多肽类药物的重要性。

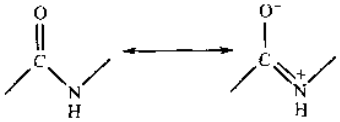
作为各种酶重要组分的蛋白质,对于生命活动的重要性更是不言而喻的。没有这些重要生物催化剂的作用,生命活动就将停止。因此,研究多肽和蛋白质化学对于了解生命现象和改善生命活动是非常重要的。

一、肽和蛋白质的结构和特性

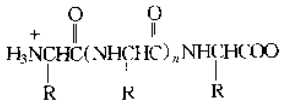
肽和蛋白质都是由氨基酸通过酰胺键(—CONH—)联结而成。例如,一个由丙氨酸(alanine)、半胱胺酸(cysteine)和缬氨酸(valine)组成的三肽结构如下:



在三肽中含有两个酰胺键。由于羰基与氮原子之间的键已具部分双键性质,限制自由旋转。因此,这四个原子处于同一平面,这一结构特征对于肽和蛋白质的空间构象是非常重要的。



按其结构特征,肽又可分为直链肽,即



例如,促黄体激素释放激素(LHRH)即为链状十肽,即

Glp-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly-NH_2

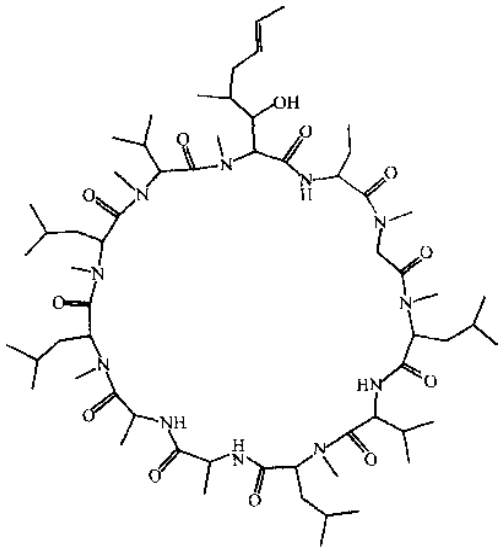


图11-1　cyclosporine A的结构

除了直链肽之外，环肽也广泛存在于自然界，如以硫硫键相连的催产素(oxytocin)，

Cys-Tyr-Ile-Gln-Asn-Cys-Pro-Leu-Gly-NH_2

另一类环肽是头尾以酰胺键相连的，如环肽类抗菌素，它们中有些含有非天然氨基酸如cyclosporine A(图 11-1)。

除了上述常见的环肽之外，还有内酯肽及侧链环肽等。

二、天然的生物活性多肽

迄今为止，对生物活性多肽的研究主要集中在动物，特别是哺乳动物来源的生物活性肽。它们在哺乳动物如人类的所有内分泌腺器中都有分布，

从哺乳类动物得到的多肽类激素种类很多，分布也非常广泛，生理功能也非常显著。但这类多肽的含量都非常少。例如，促黄体激素释放激素(LH-RH)存在于下丘脑中，20 世纪 70 年代初 Schally 与 Guillemin 等从数十万头猪或羊的下丘脑中才分离纯化得到毫克量的提抽物，并借此确定了 LH-RH 的结构[35]。

表 11-3 所示的多肽激素根据它们来源不同的内分泌腺及作用靶细胞的不同，大体可分为下丘脑、垂体、胃肠、胰腺及组织激肽等[36]。多肽激素研究的进展表明，它们的分布是很广泛的。例如，从两栖类动物蛙皮分离得到的蛙皮肽类，表明它们与从高等动物组织中分离得到的活性肽有相同的生理功能与很高的结构同源性。因此，Erspamer[37]在比较和总结生物活性肽的分布情况后，提出了三角分布(脑、肠、皮)的观点。近来还有一种观点，认为应将神经肽与其他活性肽区别开来，即将由神经细胞合成并释放，作用于神经元的多肽称之为神经肽[38]。正如上述"三角"分布所阐述的情况，多肽在动物体内的分布是很难界定在某一特定组织内的. 有些生物活性肽如激肽类，不但存在于高等动物中，也普遍存于低等动物中。

表 11-3 主要的多肽和蛋白质激素的分布及生理效应

内分泌腺	多肽激素	主要靶器官	生物效应
腺垂体	促黄体生成激素(LH)或促间质细胞激素(ICSH)	卵巢、睾丸	促性腺发育，性激素的生成和分泌；排卵
	促卵泡成熟激素(FSH)	卵巢、睾丸	促卵泡发育，精子的生成，协调 LH 的作用，性激素的合成和分泌
	促甲状腺激素(TSH)	甲状腺	促甲状腺生长，甲状腺素的形成和分泌
	催乳激素(PRL)	乳腺，黄体	乳腺增殖和泌乳的启动，刺激黄体
	生长激素(GH)	全身	骨骼、肌肉生长和代谢
	促肾上腺皮质激素(ACTH)	肾上腺皮质	促肾上腺皮质生长，肾上腺皮质激素的生成和分泌
	脂肪酸释放激素(β-LPH)	—	激素原，β-内啡肽与 β-促黑激素等的前体等
神经垂体	催产素	子宫平滑肌，乳腺平滑肌	分娩时子宫收缩，产后排乳
	加压素	小动脉，肾小管	水的重吸收，血压升高
胰腺	胰岛素	肝、脂肪组织、肌肉	糖的利用，降低血糖，生脂作用
	胰高血糖素	肝、脂肪组织、肌肉	糖元分解，脂类释放，升高血糖
	胰脏多肽	—	—
消化道	胃泌素	胃	胃酸分泌
	胆囊收缩素(CCK)	胆囊、胰腺	胆囊收缩，排胆汁，胰酶分泌
	促血管舒张肠肽(VIP)	血管平滑肌等	与胰高血糖素、肠促胰泌素的效应相仿
	抑胃肽(GIP)	胃、胰腺	抑制胃酸分泌，刺激胰岛素分泌
甲状旁腺	甲状旁腺激素(PTH)	骨骼、肾、肠道	升高血钙，调节磷代谢
	降血钙素(CT)	骨骼等	降低血钙，调节磷代谢
黄体	松弛素	趾骨联合、子宫肌	产道肌肉松弛等
胸腺	胸腺激素等	淋巴系统	刺激 T-细胞成熟分化，增强机体免疫能力

迄今为止，已阐明结构的植物来源的活性肽还很少见，但微生物和真菌中都富含肽类物质，如多肽抗菌素。青霉素和头孢霉素家族，这两类重要的抗菌素即为含环内酰胺结构的三肽。

抗菌多肽(valinomycin)[39]具离子通道功能，有抗细菌和真菌活性。Nisin 具有更复杂的环状结构，它现被用作食品防腐剂。自 1971 年结构被确定以来，Shiba 等[40]对其进行了构象研究并已化学合成。特别值得一提的是，环胞肽(cyclosporin)，它是从霉菌 *Trichoderma polysporum* 及 *Tolypocladium inflatum* 中分离得到的，是富含 D 型氨基酸及非天然氨基酸的环肽。它不仅能抑制真菌和酵母的生长，同时也具有抗炎症活性，是重要的免疫抑制剂，被用于器官移植手术中[41]。

1．肽的分离纯化与结构鉴定

一般地讲，用于氨基酸、肽与蛋白质的纯化方法大致相同，如层析、电泳及离子交换等。近代在肽类化合物的分离方法中，最具实用价值的方法有以下几种：

(1)凝胶过滤

凝胶过滤又称分子筛，实际上它又可视为体积排阻层析，用作支撑物的是一类多孔的高分子。在这类柱分离中，肽类混合物中的小分子可以进入多孔的支撑物，而大分子则不能进入。因此，大分子先洗脱下来，而小分子则随后流出，达到分离目的(图 11-2)。

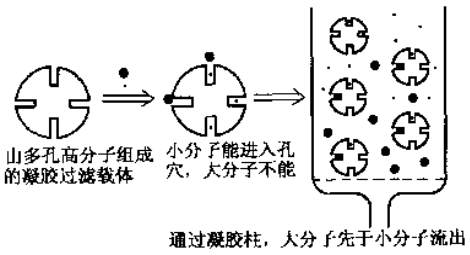


图 11-2

现在分子筛种类大致有：葡聚糖凝胶(dextran)，瑞典 Pharmacia 公司生产的各种不同交联度的 dextran，商品名 Sephadex。根据其适用范围有 Sephadex G10～G200 等各种不同型号。

琼脂糖凝胶，现在常用的商品有 Sepharose 与 Biogel 系列。

(2)SDS-Page 电泳

聚丙烯酰胺(polyacrylamide)也是一种凝胶，它更多地被用作电泳支撑物。SDS-Page 电泳广泛地用于肽与蛋白质的分析鉴定(见蛋白质部分)。

(3)高效液相层析

高效液相层析的特点是指层析是在高压下进行的，分离速度快而且是高效的，它的支撑物类型很广，只

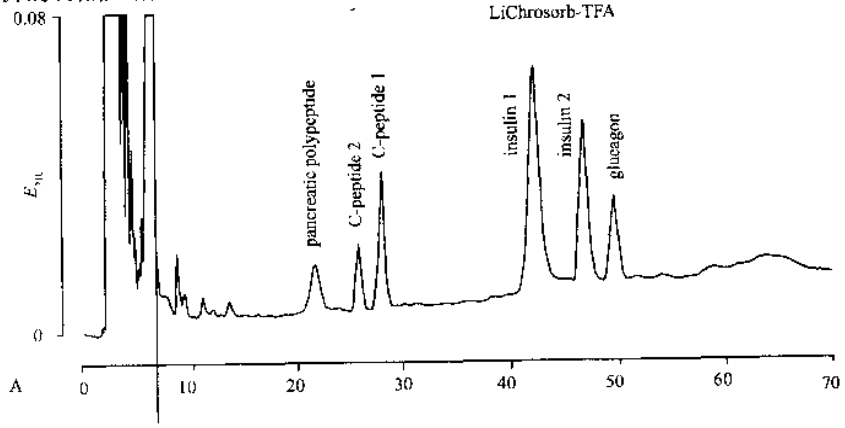


图 11-3　反相高效液相层析分离合成的不同种族 GnRH[42]

每种 GnRH 上样 0.2 μg。VydacC$_{18}$(5 μm)，0.21×15 cm 柱，TEAP 缓冲液 pH 6.5，流速 0.2 mL/min

要具有大的有效的表面积的物质都可用作固定相，可以是交换树脂，也可以是凝胶，但最常用的硅胶，特别是衍生化了的烷基硅胶，即是反向高效液相层析(RP-HPLC)，这是目前被广泛用于多肽类化合物的分离技术。在此，它的固定相为非极性的烷基化硅胶，而移动相为极性洗脱液，通常为各种 pH 与离子浓度的缓冲液，为了改进洗脱效果，通常加入一些有机溶剂作改进剂，常用的溶剂，如乙腈、甲醇等，其中，尤以乙腈为佳，因为它黏度低并且具有良好的溶解性能。这样极性大的肽先洗脱下来，而极性小的则随后。RP-HPLC 是分离多肽混合物的有效手段。如果选择好适当条件，则可将性质非常类似结构差别很小的肽类混合物分开。图 11-3 就是一个实例。

其他一些常用于多肽类化合物分离的技术如等电聚焦(isoelectric focusing)、毛细管电泳(capillary electrophoresis)及 SDS-Page 电泳等同样也广泛地应用于蛋白质的分离鉴定，较详细的叙述见蛋白质部分。

(4)生物活性多肽的分离、纯化及结构测定实例

生物活性肽在动物组织中存在含量极微，它的提取和纯化过程也是很复杂的。一个纯的活性肽的获得通常都需通过大量艰苦工作。

促性腺激素释放激素(gonadotropin releasing hormone，GnRH)或促黄体激素释放激素(leuteinizing hormone releasing hormone，LH-RH)的提取、分离及纯化鉴定就是一个非常复杂的过程。GnRH 主要存在于哺乳动物的下丘脑，为一直链十肽，它的主要功能是促进黄体生成激素(LH)的释放及卵泡成熟激素(FSH)的分泌。McCann 等虽早就报道了下丘脑的粗提物有促排卵作用，但真正获得纯的产品并确定其结构是由 Schally 等及 Guillemin 等完成的。

1971 年，Schally 等报道了这一艰巨工作[43]，由 165 000 头猪下丘脑(重 2500g)经 12 步分离提纯，最后得到 1 mg 多的纯品，具较强的刺激释放 LH 和 FSH 活性。其分离步骤简述如下：

$$\text{猪下丘脑 } 165\,000(2.5\text{ kg}) \xrightarrow[2\text{ mol/L HOAc}]{\text{粉碎、去脂}} \text{抽提液冷冻后} \xrightarrow{\text{冰乙酸}} \text{冷冻干燥粉 } (665\text{ g}) \xrightarrow[\text{Sephadex G25}\ 1\text{ mol/L HOAc}]{\text{凝胶过滤}}$$

$$\text{具 LH 和 FSH 活性部位的冻干粉 } (380\text{ g}) \xrightarrow{\text{去盐，用苯酚抽提}} 83\text{ g(LH 释放活性 30～150 } \mu\text{g，FSH 100 } \mu\text{g)} \xrightarrow{\text{CMC，NH}_4\text{OAc}}$$

$$277\text{ mg(LH 0.1 } \mu\text{g，FSH 0.5 } \mu\text{g)} \xrightarrow{\text{电泳(FPE)}} 94.8\text{ mg(LH 50ng，FSH 0.3 } \mu\text{g)} \xrightarrow{\text{逆流分溶}}$$

$$14.2\text{ mg(LH 2～25 ng，FSH 10～30 ng)} \xrightarrow{\text{分配层析 Sephadex G25}} 2.3\text{ mg} \xrightarrow{\text{区带电泳}} 830\ \mu\text{g}$$

以上所述为自动物组织中分离提取生物活性肽的典型步骤。当然，近年来由于分离技术的进步，特别是高效液相色谱的广泛应用，分离提纯步骤可以大大简化并可以提高效率。

2．肽的合成

从 19 世纪 80 年代 E. Fischer 与 T. Curtius 第一次成功地合成多肽开始，迄今已有一百多年历史。近年来，由于有机合成化学与近代分析技术的进步，使得多肽合成化学更趋成熟。特别是固相合成技术的发展及随之而实现的机械化、自动化，使得快速、方便地合成多肽成为现实。大多数肽类化合物在自然界存在很少，而且还存在一些结构上的不稳定性，而化学合成的多肽或修饰的多肽类化合物可以克服这些缺点，可以提供种类繁多的多肽类药物，在生命科学的发展中起了重要作用。

简单地讲，两个氨基酸就可组成肽(二肽)，但实际上并不能由两个氨基酸直接缩合成二肽热力学是不利的。

$$^+NH_3CHR'COO^- + {}^+NH_3CHR''COO^- \not\longrightarrow {}^+NH_3CHR'CONHCHR''COO^- + H_2O$$

要实现一个简单二肽的合成，通常步骤是：将作为羧基组分的氨基酸的氨基加以保护，同时将作为氨基组分的氨基酸的羧基加以保护。反应如下：

$$^+NH_3CHR'COO^- \longrightarrow \underset{\text{羧基组分}}{XNHCHR'COOH}$$

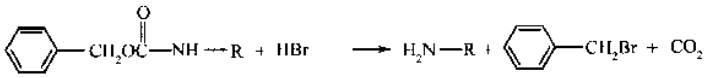
$$^+NH_3CHR^2COO^- \longrightarrow \underset{\text{氨基组分}}{NH_2CHR_2COOY}$$

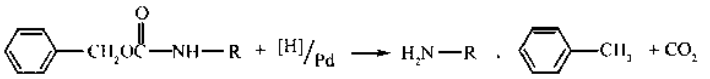
$$XNHCHR'COOH + NH_2CHR''COOY \longrightarrow XNHCHR'CONHCHR''COOY$$

活化羧基组分中羧基的方法很多，可通过形成酰卤、酸酐或各种类型的活化酯或其他活性衍生物以实现羧基的活化。

1)氨基的保护。在种类繁多的氨基保护基中,最常用的还是氨基甲酸酯(urethane 或 carbamate)。其中最常用的与最具代表性的有苄氧羰酰基(benzyloxycarbonyl, Z)[44],叔丁氧羰酰基(*t*-butyloxycarbonyl, BOC)[45]及芴甲氧羰酰基(9-fluorenylmethoxycarbonyl, Fmoc)[46]。

作为早期广泛被应用的 Z,它的优点是氨基酸衍生物易于制备与结晶。它可用酸解 HBr-AcOH 或氢解(H_2/Pd)脱除。随后发展的 BOC 更具实用性,特别是在固相肽合成中,BOC 对酸敏感,可在酸性条件下去除,常用的试剂有 CF_3COOH 或 HCl-有机溶剂。



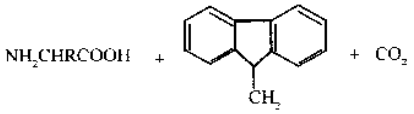


$$((CH_3)_3COCO)_2O + NH_2CHRCOOH \longrightarrow (CH_3)_3COCONHCHRCOOH$$

$$(CH_3)_3COCONHCHRCOOH \xrightarrow{H^+} \overset{+}{N}H_3CHRCOOH + (CH_3)_2C{=}CH_2 + CO_2$$

Fmoc 是对碱敏感,对酸稳定的氨基保护基。碱性试剂如有机碱吗啉(morpholine)、六氢吡啶和二乙基胺都能使其脱除。





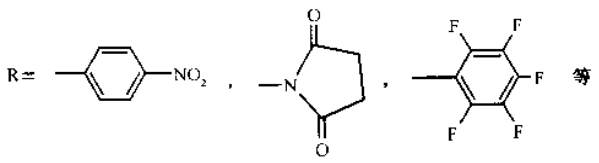
2)羧基的保护。相对于氨基保护而言,羧基的保护基种类要简单得多。在最简单的情况下通过与碱金属成盐就可保护。通常都是酯化成甲酯、乙酯、叔丁酯或苄酯等保护。甲酯或乙酯可通过皂化脱除,而苄酯则用催化氢解脱除。叔丁酯的脱除则通常用酸解(HCl、CF_3COOH 等)实现。

3)侧链基团的保护。在天然氨基酸中,有些还带有功能侧链,如半胱氨酸的巯基、丝氨酸与酪氨酸的羟基、精氨酸的胍基和组氨酸的咪唑基等。这些功能团一般都需要加以保护。这些保护基团的选择应与 α-氨基与羧基的保护基团协调配合。

4)肽键的形成。正如前述,几乎所有肽键形成的方法都是活化羧基组分中的羧基,以利于氨基的亲核进攻。早期应用的方法如酰氯(RCOCl)、叠氮($RCON_3$)由于存在一些缺点,现已较少应用。现在形成肽键的常用方法有活化酯法、酸酐法及缩合剂。

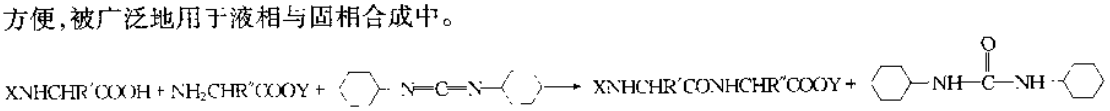
氨基酸的羧基与带有吸电子基团的烷基或芳烃衍生物形成的酯具有足够活性,利于氨基的亲核进攻而形成肽键,这即是活化酯法。常用的酯基有对硝基酚[47]、*N*-羟基琥珀酰亚胺[48]、五氟苯酚等[49]。

$$XNHCHR'COOR + NH_2CHR''COOY \longrightarrow XNHCHR'CONHCHR''COOY + ROH$$



通过形成酸酐活化羧基实现肽键形成的方法,也是被广泛应用的。特别是保护氨基酸与氯代甲酸酯生成的混合酸酐更被广泛应用。此法的优点为产物干净,副反应少。

相比上述方法而言,使用缩合剂的方法似更便捷。最常用的缩合剂有二环己基碳二亚胺[50]。由于它的使用方便,被广泛地用于液相与固相合成中。



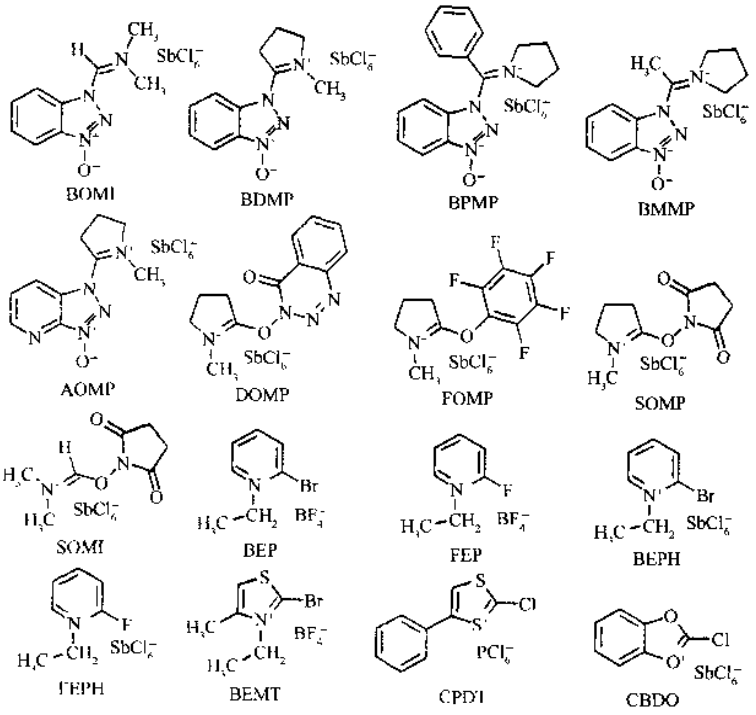


图 11-4 新型 N、O 和 S 正离子缩合剂

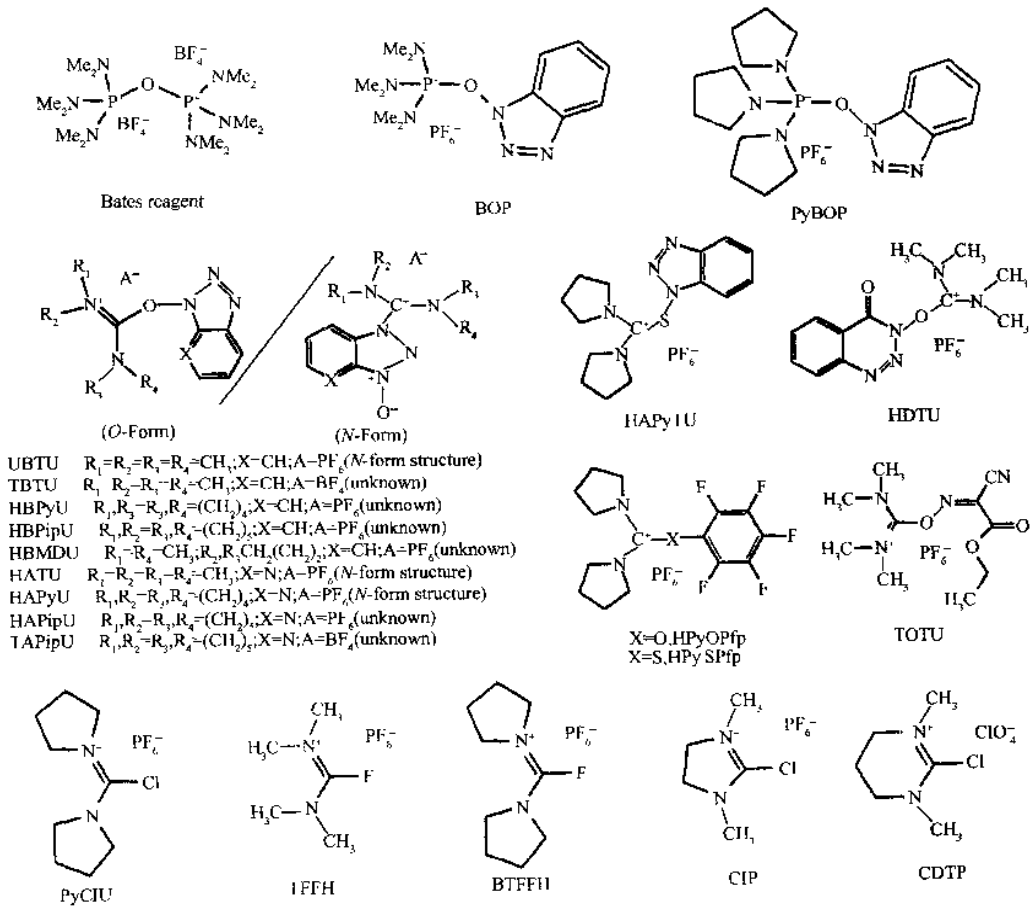


图 11-5 新型磷正和碳正离子型缩合剂

近20年来，各种结构类型的缩合剂相继出现(图11-4)。其中以Castro首先使用的BOP试剂最具实用性[51]。这些缩合剂结构各异，有磷正离子、碳正离子和氮正离子等类型(图11-5)[52,53]。它们一般都具有缩合能力强和副反应少等优点。例如，一类含吡啶盐结构的缩合剂(BEP、FEP等)更适合于空间位阻大的肽的合成[53]。

5)肽的固相合成。上述的肽键形成方法对于液相或固相肽合成都是相同的，但在实现的方式或手段上却是不同的。固相合成是以一种不溶的高分子为载体，实现在半杂相情况下的缩合，用过量的反应物与缩合剂以使缩合反应接近完全，过量缩合剂与反应物则用简单的洗涤方法除去。连接在不溶的高分子物上的肽再经过重复的操作方式增长。以合成一个含A、B、C、D、E、F的六肽为例，其合成流程如图11-6所示。

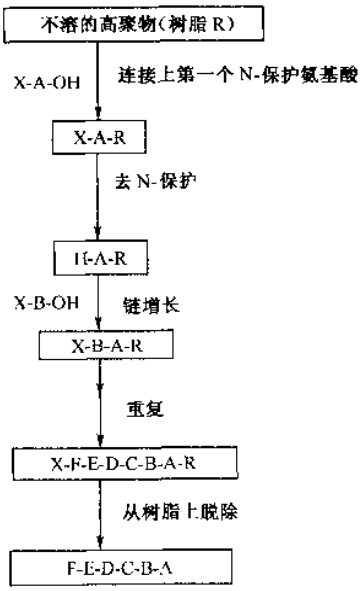


图11-6

固相肽合成实现了肽合成的新概念，具有方便、简单的特点，自1963年Merrifield[54]首次发展这个方法之后，经过不断改进与完善已经实现自动化，作为载体的树脂也不断改进，现在在多肽合成及多肽类药物合成中都广泛采用固相法。

第三节　蛋　白　质

蛋白质在生命科学中的重要性是不言而喻的，在生物体的各种组织中都广泛存在。它是生物催化剂——酶；保护性蛋白——抗体；调节蛋白——DNA结合蛋白和激素；结构蛋白——胶原及传送蛋白——血红蛋白等的主要组分。

近年来，我国科学工作者从天然产物中分离到许多具有重要生理功能的蛋白质，特别是从葫芦科植物如栝楼、苦瓜子和王瓜中分离到许多活性蛋白[55]。其中天花粉蛋白的结构鉴定与生理活性研究是我国科学工作者通力协作所取得的重大成果。本章即从它的分离、提纯、结构测定等的实际方法来了解如何从天然产物中分离生物活性蛋白质，这是很具代表性的工作；同时也了解蛋白质结构测定方法的最新进展。

以往在有关天然产物的专著中，对蛋白质往往只介绍一些它们的提取、分离、纯化等方法和简单的物理化学性质。对其结构的测定、结构与功能的关系等很少涉及。随着科学技术的不断发展，特别是近几十年来蛋白质化学的迅猛发展，对测定一个相对分子质量在2万～3万蛋白质的一级结构和三维结构已并非难事。因此，必须对天然产物中其有效成分为蛋白质者作更详细的介绍。本节以天花粉蛋白为实例，对天然产物中蛋白质的提取、分离、纯化、纯度鉴定、结构测定和结构与功能关系作系统的论述。

天花粉蛋白是从中草药栝楼(*Trichosanthes kirilowii* Maxim, Cucurbitaceae)的根中提取的。栝楼根又称

天花粉，其中的蛋白质是我国独创的计划生育和治疗宫外孕、葡萄胎、恶性葡萄胎、死胎、植入性胎盘等的良药[55]。1989 年，美国又发现天花粉蛋白能抑制 HIV 的复制和繁殖[56]，用于治疗艾滋病。

业已证明天花粉蛋白也是一个单链核糖体失活蛋白（ribosome-inactivating-protein，RIP）[57,58]，属 RNA N-糖苷酶型。它能专一性水解 28S rRNA 第 4324 位腺苷酸的 N—C 糖苷键，释放出一个腺嘌呤碱基，使核糖体失活，这类蛋白质广泛存在于天然产物中。

一、分离纯化[59]

一般蛋白质的分离纯化可以按溶解度不同进行初步的分离，如用无机盐[最常用$(NH_4)_2SO_4$]或有机溶剂（如丙酮、乙醇等）沉淀；按分子大小的不同进行分离，如各种类型的分子筛（Sephadex 葡聚糖凝胶、Bio-gel 生物凝胶）、SDS（十二烷基硫酸钠）凝胶电泳，各种不同孔径的透析袋或超滤膜；按电荷性质不同进行分离纯化，如各种类型的离子交换树脂和等电聚焦等方法；根据生物活性的不同，如亲和层析；也可以用结晶方法；高效液相色谱等方法进一步纯化。现以天花粉蛋白等为例说明如下[59,60]：

1. 丙酮分级沉淀（精制天花粉蛋白）

采集 10 kg 新鲜天花粉块根，去皮，捣碎，榨汁，过滤，得 2000 mL 原汁。将上清液冷却到 5℃以下，用 2 mol/L盐酸调 pH 到 4 左右，即有沉淀析出。然后在 5℃以下再慢慢加入 1600 mL（用原汁体积的 0.8 倍）冰冷

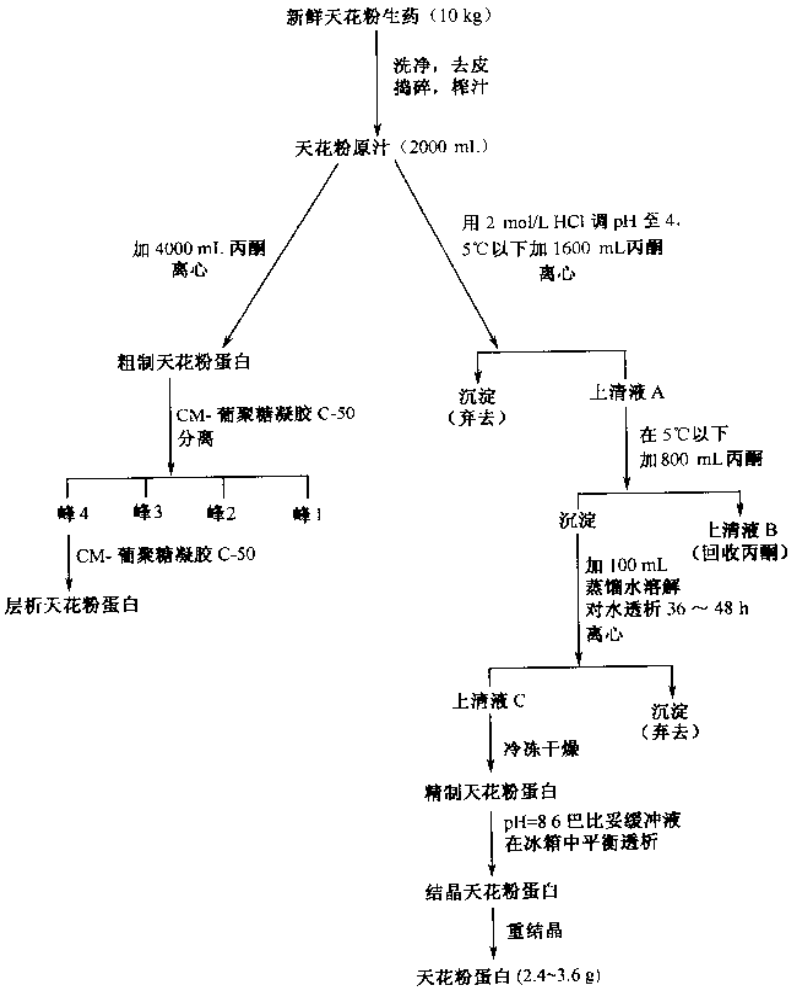


图 11-7 天花粉蛋白分离、纯化流程图

的丙酮，有沉淀析出。用冷冻离心机离心 20 min(0～5℃，1500 r/min)，除去沉淀。上清液 A 在 5℃以下再加入 800 mL 冰冷的丙酮，有沉淀析出，在同样条件下离心，得沉淀和上清液 B。所得沉淀用 100 mL 蒸馏水溶解，对流水透析36～48 h，离心，弃去沉淀，清液 C 冷冻干燥，得 10～15 g 干粉即为精制天花粉蛋白，得率为 0.1%～0.15%。上清液 B 内含有热原性糖蛋白、游离氨基酸和多糖等，从中还可以回收丙酮(见图 11-7)。

2. 结晶天花粉蛋白的制备

1 g 精制天花粉蛋白溶于 10 mL 蒸馏水，离心，除去不溶物质。上清液装入透析袋在冰箱中对 pH＝8.6 巴比妥缓冲液透析。一星期内有长方片状结晶生长，得 300 mg 左右结晶天花粉蛋白。

3. 层析方法

(1)葡聚糖凝胶(Sephadex)层析

从天花粉压汁后的残渣中用生理盐水提取和硫酸铵沉淀法得到栝楼蛋白的粗提物，再经 Sephadex G-75 分离得到两个峰。第二个峰(主峰)含有栝楼蛋白[60]，如图 11-8。

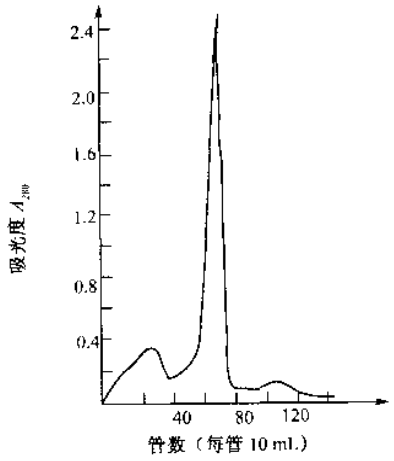


图 11-8　粗栝楼蛋白用葡聚糖凝胶 G-75 柱层析，吸收波长 280nm

(2)羧甲基葡聚糖凝胶法

这种凝胶把羧甲基(—O—CH_2—$COONa^+$)阳离子交换基团接到葡聚糖上使这种凝胶既具有离子交换作用，又具有分子筛作用，分离效果较好。例如，丙酮沉淀天花粉蛋白用羟甲基葡聚糖凝胶分离后主要可得 4 个峰[59]，如图 11-9。

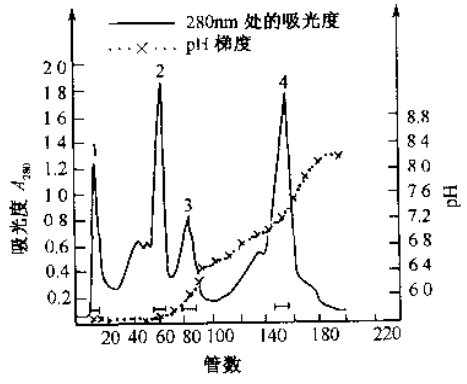


图 11-9　粗天花粉蛋白用羧甲基葡聚糖凝胶 C-50 的柱层析

不同纯度的天花粉蛋白其活性测定结果如表 11-4 所示。

表 11-4 不同纯度天花粉蛋白的生物活性

样 品	小鼠数	剂量/(mg/只)	活性/%
粗制天花粉蛋白	>5	0.2	75－100
精制天花粉蛋白	>5	0.05	75－100
结晶天花粉蛋白	24	0.05	99
结晶天花粉蛋白	12	0.04	100
结晶天花粉蛋白	10	0.03	97
结晶天花粉蛋白	7	0.02	63
结晶天花粉蛋白	4	0.0125	77
结晶天花粉蛋白	6	0.01	40
CM 天花粉蛋白峰 I	>5	0.05	0
CM 天花粉蛋白峰 II	>5	0.05	0
CM 天花粉蛋白峰 III	>5	0.05	0
CM 天花粉蛋白峰 IV	>5	0.05	75

二、纯度的检定

天花粉蛋白是一种复杂的大分子有机化合物，它具有生物大分子蛋白质的一般性质和特性。常规的蛋白质纯度检定方法可以用于该蛋白质的检定，现简述如下：

1. 十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳法(简称 SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳法)鉴定分子大小[61]

按常法用 SDS 凝胶电泳法检定天花粉蛋白。因为蛋白质经 SDS 处理后，带有负电荷，在电泳中向正极移动，其电泳迁移率只与相对分子质量大小有关，借此可以检定蛋白质的相对分子质量与均一性。电泳用 0.1 mol/L，pH＝7.2 磷酸盐缓冲液系统，凝胶浓度为 10% 丙烯酰胺，用考马斯亮蓝 R250 染色，其结果见图 11-10。结晶天花粉蛋白只出现一条色带，显示其分子是均一的。



图 11-10 不同纯度天花粉蛋白 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳
1—粗天花粉蛋白；2—结晶天花粉蛋白；3—天花粉蛋白

另外，用分子筛如葡聚糖凝胶分离结晶天花粉蛋白也只显一峰，也证明其分子大小是均一的。

2. 从电荷性质方面鉴定

采用 pH＝4.3 氢氧化钾-乙酸系统[62]，聚丙烯酰胺凝胶圆盘电泳(丙烯酰胺的浓度为 15%)所得结果见图11-11。结晶天花粉蛋白只有一条色带，粗制天花粉蛋白有十几条色带。粗制天花粉蛋白经羧甲基葡聚糖凝胶分离后，其峰 1、2、3、4 和 5 在此系统中电泳位置不同(图 11-12)，说明这些蛋白质等电点不同。

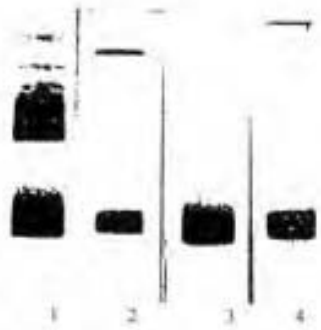


图 11-11　不同纯度的天花粉蛋白的聚丙烯酰胺凝胶圆盘电泳
1—粗制天花粉蛋白；2—分级沉淀天花粉蛋白；3—结晶天花粉蛋白；4—天花粉蛋白

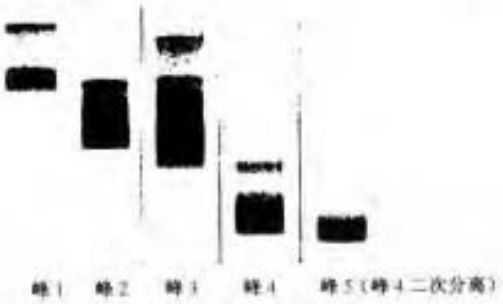


图 11-12　粗制天花粉蛋白经羧甲基葡聚糖凝胶分离的各峰聚丙烯酰胺凝胶电泳

3. 免疫血清法检定

一般异性蛋白质都有抗原性，注射到各种动物（如羊、兔等）体内，能在这些动物血清中产生专一性的抗体。天花粉蛋白也有强抗原性，如把粗制天花粉蛋白多次注射到兔或羊等动物体内，1～2 个月后它们的血清中会含天花粉蛋白抗体，取这种免疫血清做免疫电泳。用离子强度为 0.05、pH＝8.8 的巴比妥缓冲液配制成 0.3% 琼脂糖溶液，铺于 3 cm×7.5 cm 的玻片上，在凝胶板上两边挖两个小孔，分别加粗制天花粉蛋白和结晶天花粉蛋白溶液，在 pH＝8.8 巴比妥缓冲液中电泳后，在中间开一条窄槽，加粗制天花粉蛋白免疫血清，在密闭缸中任其扩散。抗体与抗原结合产生白色沉淀形成一条弧线，然后彻底洗去粗制天花粉蛋白免疫血清，用氨基黑 10B 染色，其结果见图 11-13。粗制天花粉蛋白显示有五六条弧线，结晶天花粉蛋白只有一条弧线，证明天花粉蛋白在免疫特性上也是均一的。

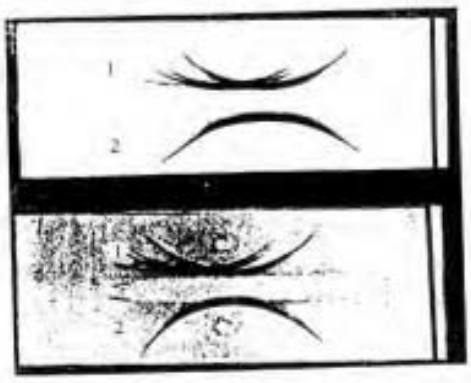


图 11-13　不同纯度天花粉蛋白的免疫电泳
1—粗制天花粉蛋白；2—结晶天花粉蛋白

4.N 末端氨基酸的检定

按常法用二甲氨基萘磺酰氯(dansyl chloride)和 4-*N*, *N*-二甲胺基偶氮苯-4′-异硫氰酸酯(4-*N*, *N*-dimethylaminoazobenzene-4′-isothiocyanate, DABITC)[63]分别测定天花粉蛋白的 N 末端,结果都证明为单一的天冬氨酸(图 11-14)。

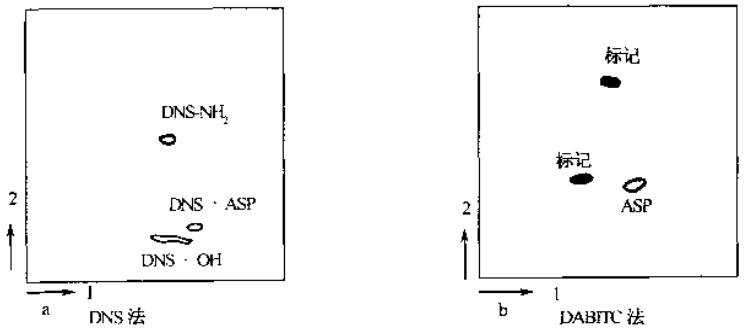


图 11-14 天花粉蛋白 N 末端的测定

a.1 为 1.5%甲酸水溶液;2 为苯:乙酸(9:1,体积比)。

b.1 为 33%乙酸;2 为甲苯:正己烷:乙酸(2:1:1,体积比)

5.C 末端氨基酸的检定

按常法用羧肽酶[64]、肼解[65]、乙内酰硫脲等法[66]测定天花粉蛋白的 C 末端,不能得到肯定的结论。肼解法结果,出现甲硫氨酸、丙氨酸、甘氨酸等,都有可能是 C 末端氨基酸;乙内酰硫脲法出现丙氨酸和甲硫氨酸;羧肽酶 A 显示丙氨酸和甲硫氨酸两个 C 末端氨基酸的可能。最后根据计算机辅助的羧肽酶法测定 C 末端是不均一的,有两个:一是甲硫氨酸;二是丙氨酸。这类末端微观不均一性的情况在植物性蛋白并不是独有的。

6. 氨基酸测定

每一种均一性蛋白质应该有恒定的氨基酸组成,按常法将不同批号的结晶天花粉蛋白用 5.7 mol/L 盐酸在封管中 105℃水解 24h,减压浓缩除去盐酸后,经氨基酸分析仪分析其氨基酸组成恒定。

7. 结晶

用结晶的方法来纯化蛋白质,也是一种重要手段。天花粉蛋白在巴比妥缓冲液中得单斜晶系晶体,而在柠檬酸缓冲液中(pH=5.4)可获得正交晶系单晶。

8. 生物活性

每一种均一性蛋白质应该有一定的生物活性(当然要在不变性失活情况下),结晶天花粉蛋白的生物活性 ED_{50}为 0.31 mg/kg。

9. 毛细管电泳

如用毛细管电泳可以证明天花粉蛋白与栝楼蛋白不同。把天花粉蛋白与栝楼蛋白混合后做毛细管电泳得到明显的两个峰[60],如图 11-15。

10. 高效液相色谱(HPLC)

栝楼蛋白用 HPLC 检定得到很好的一个峰,如图 11-16。

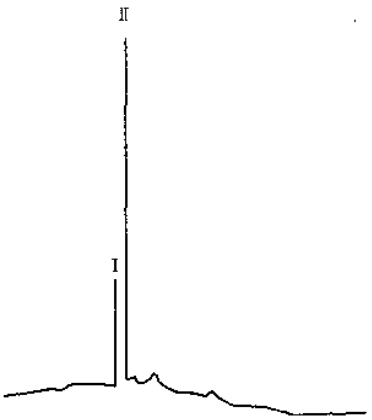


图 11-15　栝楼蛋白和天花粉蛋白混合后的毛细管电泳
电泳液：0.1 mol/L pH- 2.5 磷酸缓冲液 + 4 mol/L 脲
毛细管：75 μm × 60 cm；工作电压：20 kV
进样方式：重力进样；进样时间：15 s



图 11-16　栝楼蛋白 HPLC
洗脱液：0.1mol/L HOAc；流速：1mL/min
检测波长：280nm；柱：TSK-Gel 2000SW

11. 质谱

20 世纪 80 年代末 90 年代初，由于质谱技术的发展，一种被称为电喷雾电离质谱(electrospray ionization-MS，ESI-MS)[67]；另一种被称为基质辅助激光解析电离飞行时间质谱(matrix assisted laser desorption ionization-time of flight-MS，MALDI-TOF-MS)[67]，解决了极性大、热不稳定的蛋白质、多肽离子化和相对分子质量测定问题，只要蛋白质在相对分子质量方面不均一用质谱方法立即能够检出，如天花粉蛋白 C 端不均匀，一个为 Met，另一个为 Ala。用质谱方法检出两个峰，其他方法都无法检出，因此质谱已成为蛋白质纯度检定和生物大分子结构测定的一种非常有效的方法，如图 11-17。发明这两种质谱的科学家都获得 2002 年诺贝尔化学奖。

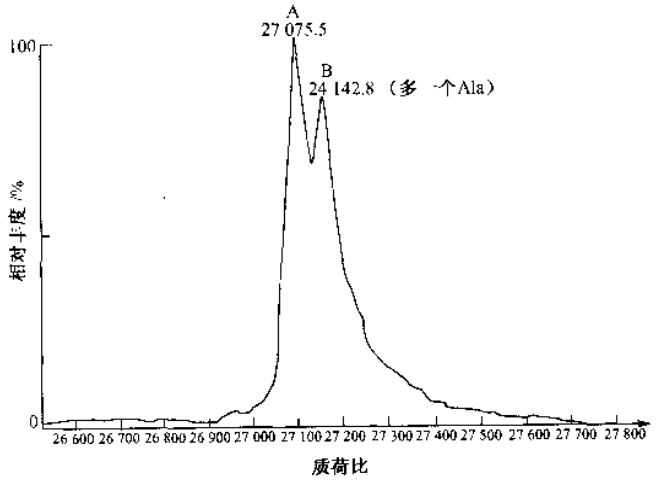


图 11-17　天花粉蛋白的 ESI-MS 的相对分子质量图谱

三、蛋白质的物理化学性质

蛋白质可以是简单蛋白质，其结构全部由氨基酸组成，如胰岛素、血清白蛋白、天花粉蛋白等；也可以是结合蛋白，除了氨基酸外还有其他辅基如核蛋白结合核酸；脂蛋白结合脂类，如磷脂、胆固醇；糖蛋白结合糖类，如 β-苦瓜子蛋白。β-苦瓜子蛋白在 51 位天冬酰胺上连接有 6 个糖分子的寡糖链，吴厚铭等[68]用 600 兆 NMR 测定了其 6 个糖的联结方式。

蛋白质的物理化学性质除了上述简单蛋白外，结合蛋白质的相对分子质量、等电点、氨基酸组成、N 端、C 端等都是非常重要的数据。

1. 相对分子质量

用 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳法估计天花粉蛋白的相对分子质量为 24 000 左右(图 11-18)。用葡聚糖凝胶 G-75 过滤法估计天花粉蛋白相对分子质量为 22 800[59](图 11-19)。用质谱法测定的相对分子质量为 27 138；从已测定的一级结构计算其相对分子质量为 27 141。

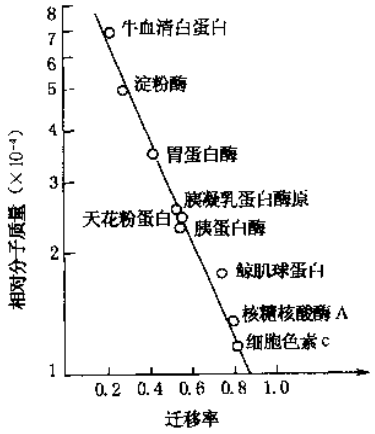


图 11-18 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳测定天花粉蛋白相对分子质量

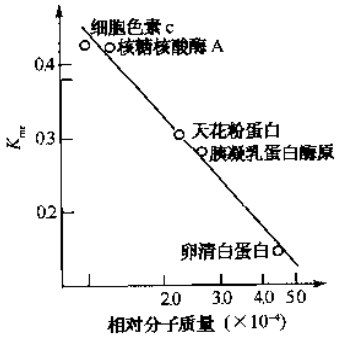


图 11-19 凝胶过滤法测定天花粉蛋白的相对分子质量凝胶

葡聚糖 G-75(超细颗粒)；柱内径：2.4 cm；床体积：262 mL；洗脱液：0.03 mol/L $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$，0.01 mol/L KH_2PO_4 中含 0.2 mol/L KCl；pH=7.0。标准蛋白质：细胞色素 c 12 000；核糖核酸酶 A 13 700；胰凝乳蛋白酶原 25 700；卵清白蛋白43 000。测得天花粉蛋白 22 800

2. 氨基酸组成

天花粉蛋白的 6mol/L 盐酸全水解物用 LKB4400 氨基酸分析仪分析其氨基酸组成(表 11-5)。天花粉蛋白含有 19 种氨基酸，不含半胱氨酸。

表 11-5　天花粉蛋白的氨基酸组成

氨基酸	分子比	氨基酸	分子比
Ala	28	Lys	9.33
Arg	14.16	Phe	9.87
Asp + Asn	27.46	Pro	9.76
Glu + Gln	22.31	Ser	25.43
Gly	12.66	Thr	16.73
His	0.97	Trp[1)]	1
Met	3.54	Tyr	12.9
Ile	16.52	Val	12.66
Leu	28.6		

1)另法分别测定。

3. 紫外吸收光谱

将 1 mg 天花粉蛋白溶于 1 mL 8 mol/L 尿素水溶液中，经紫外光谱测定表明在 278 nm 处有一吸收峰，其消光系数为 1.85×10^4。

4. 等电点

天花粉蛋白的等电点(pI)用甘油梯度等电聚焦法[69]测定为 9.4(图 11-20)，是一种碱性植物蛋白质。

天花粉蛋白的 N 端和 C 端已在纯度的检定一节中论述，这里不再重复。

综上所述，天花粉蛋白是有引产活性、简单、C 末端微观不均一的单肽链碱性蛋白质。

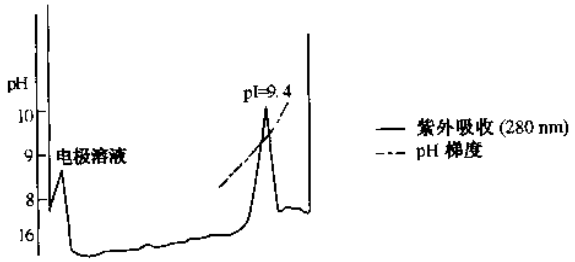


图 11-20　天花粉蛋白甘油密度梯度的等点聚焦图

1% Ampholine, pH = 3～10 (LKB)；700V, 50h；电极溶液：阳极 1% H_2SO_4；阴极 1% NaOH

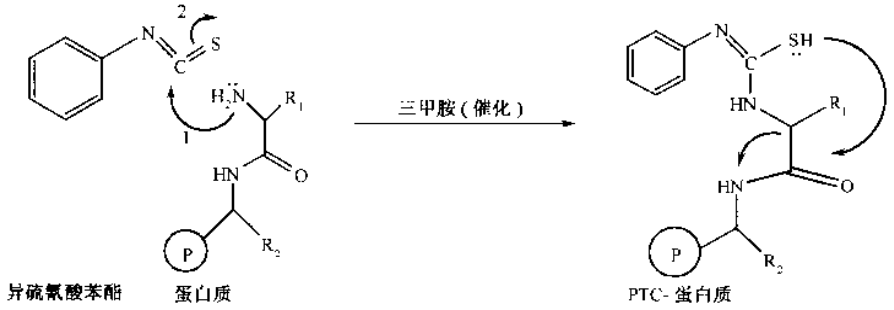
蛋白质中如有硫-硫键，那需要搞清其硫-硫键位置，那是一个复杂问题，可参考有关资料，这里不再累述。现在用质谱方法能测定其硫-硫键的配对。

四、蛋白质一级结构的测定

在用各种方法检定蛋白质纯度是均一后(纯度在 95% 以上)，可以测定蛋白质的一级结构。蛋白质一级结构的测定目前已有很多方法，如化学方法利用 Edman 降解从 N 端开始逐个测定，用基因方法和物理方法如质谱、核磁共振等。本节主要介绍 Edman 降解法[70]，其基本反应是通过三个步骤偶联、裂解、转化和 PTH 氨基酸检定。

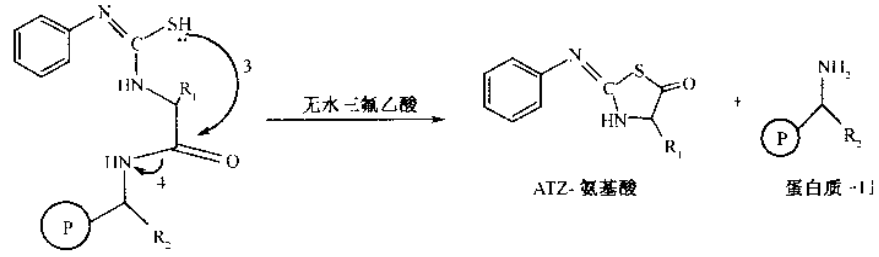
1. 偶联

蛋白质和多肽的自由 α-氨基经与异硫氰酸苯酯(PITC)试剂偶联后，与其紧挨的第二个残基的键合力大大减弱，很容易断裂。反应如下：



2. 裂解

在无水条件下酸裂解，仅仅切下反应的那个残基．紧挨的第二个氨基酸残基暴露出自由的 α-氨基，又可与 PITC 进行偶联反应。



3. 转化

ATZ-氨基酸不稳定，在三氟乙酸水溶液(25%)条件下可转化成稳定的 PTH-氨基酸(图 11-21)。

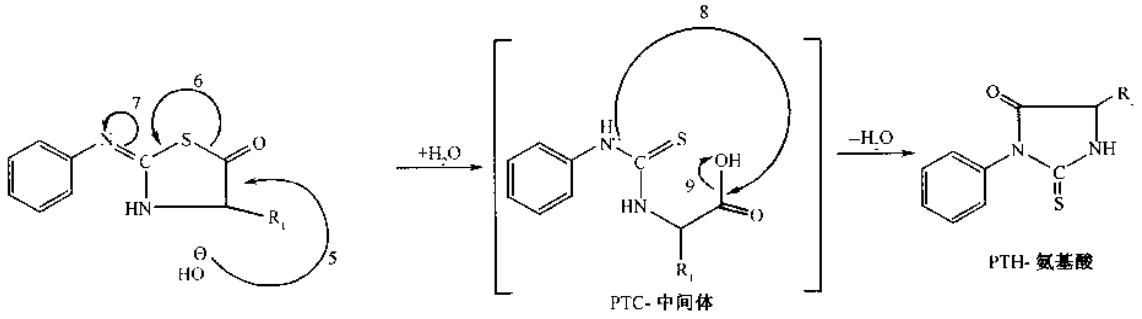


图 11-21 Edman 降解化学反应图

4. PTH-氨基酸的鉴定

可以通过薄层层析、气相色谱、高效液相色谱及质谱等各种手段进行分析。近年来，由于高效液相色谱技术具有分析速度快、灵敏度高、定性定量准确等诸多优点，并且仪器自身结构也日臻完善，被广泛应用于 PTH-氨基酸的鉴定。通常选用 C-18 反相柱进行分离。

蛋白质化学方法的顺序测定现在一般都用仪器，可以详见夏其昌主编的《蛋白质化学研究技术与进展》一书(1997 年，北京，科学出版社)。

在没有顺序仪的实验室也可以用手工 DABITC/PITC 双偶合法测定[63,71]，该法具有简便有效快速等优点。

DABITC/PITC 双偶合微量顺序测定法，是用有色试剂 DABITC 与多肽或蛋白质的氨基做第一次偶合，因该偶合反应产率只有 20%～50%，余下没有与 DABITC 偶合的氨基再用 PITC 做第二次偶合，由于 PITC 与多肽或蛋白质的偶合反应几乎是定量的，这样就保证了每个残基都反应完全，然后再裂解、转化、鉴定有色的 DABTH-氨基酸。失去一个残基后的肽或蛋白质再偶合、裂解、转化，依次循环测定多肽和蛋白质序列，其反应原理如图 11-22 所示。

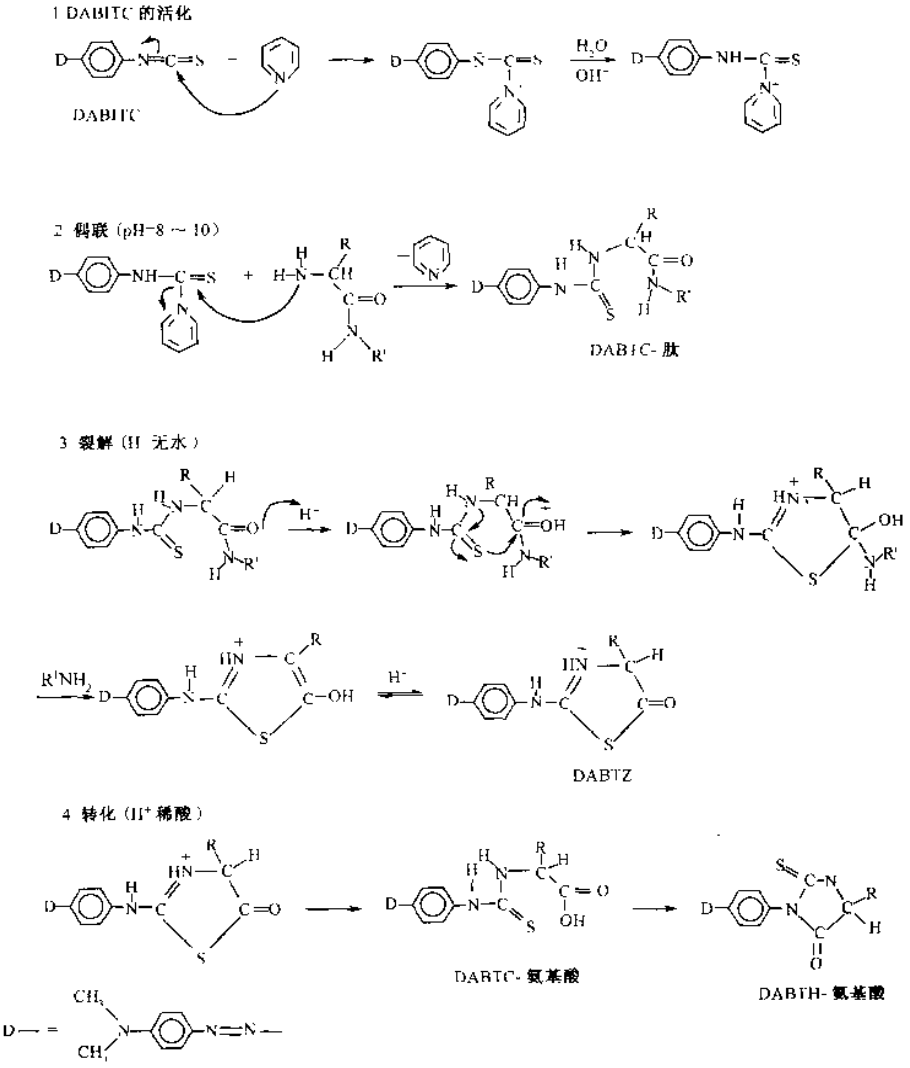


图 11-22　DABITC/PITC 降解反应图

DABITC:4-*N*,*N*-二甲胺基偶氮苯-4′-异硫氰酸酯(4-*N*,*N*-dimethylaminoazobenzene-4′-isothiocyanate)
DABTC:4-*N*,*N*-二甲胺基偶氮苯-4′-硫代氨甲酰基(4-*N*,*N*-dimethylaminoazobenzene-4′-thiocarbamoyl)
DABTZ-aa:4-*N*,*N*-二甲胺基偶氮苯-4′-噻唑啉酮-氨基酸(4-*N*,*N*-dimethylaminoazobenzene-4′-thiozolinone-aa)
DABTH-aa:4-*N*,*N*-二甲胺基偶氮苯-4′-乙内酰硫脲-氨基酸(4-*N*,*N*-dimethylaminoazobenzene-4′-thiohydantoin-aa)
PITC 偶合,裂解,转化产生的 PTH-氨基酸不做鉴定

(1)材料

DABITC(Fluka 出品或自己合成),用沸丙酮重结晶。*n*-正庚烷、乙酸乙酯、*n*-乙酸丁酯都按顺序级要求处理。吡啶先用 KOH(10g/L)回流,蒸出,再用茚三酮(1 g/L)回流,蒸出,最后再用 KOH(10g/L)回流,再蒸出。异硫氰酸苯酯(PITC)在减压下通氮气重蒸。三氟乙酸用 CrO_3 处理重蒸再用 $CaSO_4$ 干燥重蒸。超滤水。

(2)聚酰胺薄膜层析溶剂

A. Ⅰ向33%乙酸；Ⅱ向甲苯：*n*-己烷：乙酸(2:1:1,体积比)。B. 鉴定 Ile,Leu 膜 7.5 cm×4 cm,10%甲酸：乙醇(10:9,体积比)。

高效硅胶板(HPTLC Merck)鉴定 Ile,Leu,氯仿：甲醇(50:2,体积比)。

(3)偶合

将 2～5 nmol 样品放在尖底带塞小试管中(Edman 管),加 80 μL 50%吡啶溶液,加 40 μL DABITC 吡啶溶液(0.6 mg/260 μL),通高纯氮(99.99%),盖好塞子,在 50 ℃加热 45 min,然后再加 10 μL 异硫氰酸苯酯,通 N_2,用混合仪使 PITC 与反应溶液很好混合,在 50℃加热 30 min,反应混合物用 4×200 μL 正庚烷：乙酸乙酯(2:1)(如疏水性肽用 3:1)提取,除去有机层,水层在真空干燥器中干燥。

(4)裂解

干燥后水层产物加 50 μL 三氟乙酸,通入 N_2 温和搅拌混合后,在 50 ℃加热 15 min,真空干燥。如是 Pro-Pro、Pro-Ile、Pro-Val、Ile-Ile,或是 Val-Val 则需要重复裂解 1～2 次,裂解干燥后的产物加 30 μL 双蒸水,用 2×50 μL 乙酸丁酯提取 DABTZ-氨基酸,并干燥之。水层真空干燥后,进行下一步循环用。

(5)转化

将干燥后的乙酸丁酯提取物加 30μL 40%～50%三氟乙酸水溶液,通氮气,在 50℃加热 50min,真空干燥后可做鉴定。

(6)鉴定

1)用裁纸刀裁下 2.5 cm×2.5 cm 大小的聚酰胺薄膜(从 Schleicher and Schuell 购买)并放入密封盒内,用玻璃毛细管点样。

2)在膜上加入标记物,标记物的制备如下：500 μL 50%吡啶中加入 30 μL 二乙胺,30 μL 乙醇胺及 330 μg DABITC 在 55℃加热 1 h,真空干燥,用时加少量乙醇溶解。

3)在 2～5 μL 乙醇中溶解 DABTH 衍生物,并在标记物的上面点部分样品。

4)先在第一个方向上展开 4～5 min(33%乙酸水溶液)；当溶剂前沿距膜顶 2 mm 时,从烧杯中移去 TLC(薄膜层析)膜。用冷风吹干 5 min。

5)在第二个方向展开膜片 2 min(甲苯：正己烷：乙酸,2:1:1,体积比)。当前沿到达顶端 4～5 mm 时,移去膜片,冷风吹干。

6)在护罩下将聚酰胺膜放入 HCl 蒸气中(12 mol/L HCl)。与参比 DABTH-氨基酸混合物相比较鉴定红色斑点,并测定与蓝色标记物的相对迁移(图 11-22)。

7)确认 DABTH 氨基酸和附加斑点。

图 11-23 表示了 DABITC-氨基酸衍生物在邮票大小的聚酰胺膜上层析的分离结果。单个衍生物的定位是通过 2 个标记物即与 DABTH 作用的二乙基胺和二乙醇胺的迁移来决定。释放的 DABTH-氨基酸衍生物暴露在酸蒸气中产生红色斑点,而标记化合物只形成蓝色斑点。DABTH-氨基酸衍生物在微聚酰胺膜上的检测限大约 20 pmol。

也可以用 HPLC 鉴定 DABTH-氨基酸,可详见文献[71]。

蛋白质顺序测定一般的战略方针是先用顺序仪测定整个蛋白的 N 端顺序,如蛋白质纯度较高,可测定 30～50 个氨基酸残基顺序,然后再用化学和酶降解方法把蛋白降解成肽片段,然后再提纯每个肽片段后用顺序仪或手工方法测定其顺序,依照肽段交叉重叠原理排列出整个蛋白质顺序。

一般化学降解方法如表 11-6,如蛋白质中含有甲硫氨酸(Met),优先考虑用溴化氰降解[72],因一般蛋白质中含 Met 数目不会很多,用溴化氰降解后,容易得到大片段肽,这样有利于肽段顺序的排列,溴化氰降解其化学反应如图 11-24 所示。

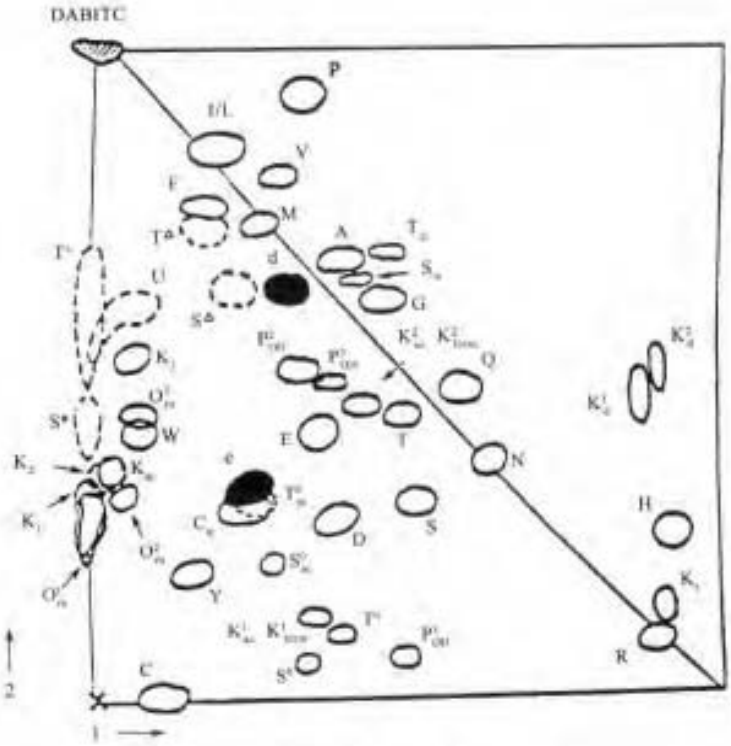


图 11-23 双向聚酰胺薄层膜上分离 DABTH 氨基酸衍生物

DABTH 氨基酸衍生物：A. 丙氨酸；C. 硫基丙氨酸；C_m. 羧甲基半胱氨酸；D. 天冬氨酸；E. 谷氨酸；F. 苯丙氨酸；G. 甘氨酸；H. 组氨酸；I. 异亮氨酸；K^3. α-DABTH-ε-DABTC 赖氨酸(红色)；K^2. α-PTH-ε-DABTC 赖氨酸(蓝色)；K^3. α-DABTH-ε-PTC 赖氨酸(蓝色)；K^1_{ac}. 乙酰基水解后的 α-DABTZ-Nε-乙酰-L-赖氨酸(蓝色)；K^2_{ac}. α-DABTZ-Nε-乙酰-L-赖氨酸(红色)；$K1_{mc}$. 甲酸基水解后的 α-DABTZ-Nε-甲酰-L-赖氨酸(蓝色)；K^1_{fmc}. α-DABTH-Nε-甲酰-L-赖氨酸(红色)；K_m. Nε-甲酰-L-赖氨酸的衍生物；K^1_2. Nε-二甲酰-L-赖氨酸的衍生物；k^2_2. Nε-二甲酰-L-赖氨酸的衍生物；K_3. Nε-三甲酰-L-赖氨酸的衍生物；L. 亮氨酸；M. 甲硫氨酸；N. 天冬酰胺；O^3. α-DABTH-ε-DABTC 鸟氨酸；O^2. α-PTH-ε-DABTC 鸟氨酸；O^3. α-DABTH-ε-PTC 鸟氨酸(蓝色)；P. 脯氨酸；P^1_{Ht}. DABTZ-4-羟基-脯氨酸(蓝色)；P^2_{Ht}. 4-羟基-脯氨酸(红色)；P^3_{Ht}. 水解后的 4-羟基-脯氨酸(红色)；Q. 谷氨酰胺；R. 精氨酸；S. 丝氨酸；S^{Δ}. 脱氢丝氨酸(蓝色)；S^*. 丝氨酸聚合物；S^0. DABTZ 丝氨酸(蓝色)；S_m. O-甲基-L-丝氨酸；S^2_m. DABTZ-O-甲基丝氨酸(蓝色)；T. 苏氨酸；T^{Δ}. 脱氢苏氨酸；T^0. DABTZ-苏氨酸(蓝色)；T^*. 蓝色的聚合苏氨酸产物；T_m. o-甲基-L-苏氨酸；T^2_m. DABTZ-O-甲基-L-苏氨酸(蓝色)；U. 氨解衍生物；V. 缬氨酸；W. 色氨酸；Y. 酪氨酸；d 和 e. 蓝色的与 DABTC 反应的二乙基胺和乙醇胺类指标记物

表 11-6 蛋白质化学降解试剂

溴化氰(BrCN)	Met-X
BNPS-Skatole[1]	Trp-X
O-亚磺酰基苯甲酸	Trp-X
N-氯代琥珀酰亚胺	Trp-X
2-硝基-5-硫氢基苯甲酸	Cys-X

1) 2-(2-硝基苯亚磺酰胺)-3-甲基-3-溴代假吲哚。

其次用 2-(2-硝基苯亚磺酰胺)-3-甲基-3-溴代假吲哚(BNPS-skatole)降解蛋白质中色氨酸(Trp)也经常被采用[73]，图 11-25 为 Trp 用 BNPS-skatole 降解反应式。其他化学降解因产率低专一性差等用得较少。

蛋白质酶降解在一级结构测定中应用得非常普遍，最常用为胰蛋白酶、胰凝乳蛋白酶等，详见表 11-7。

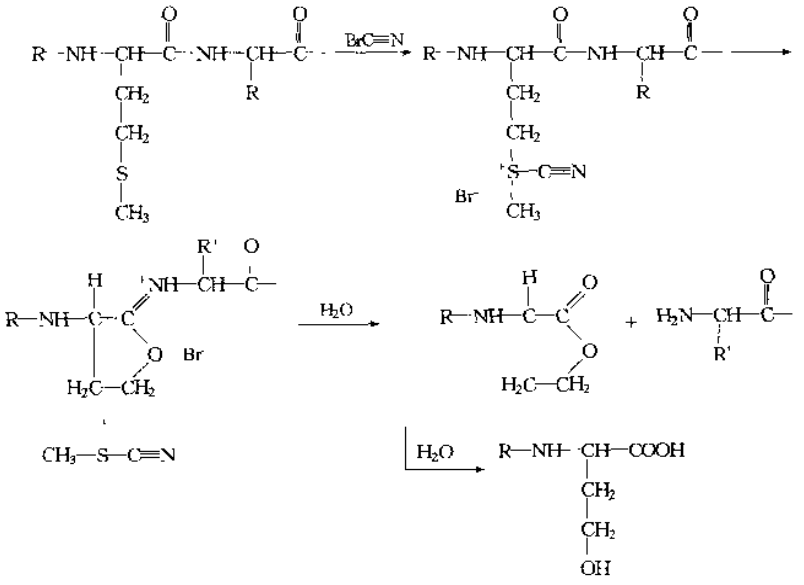


图 11-24 BrCN 降解 Met 的反应

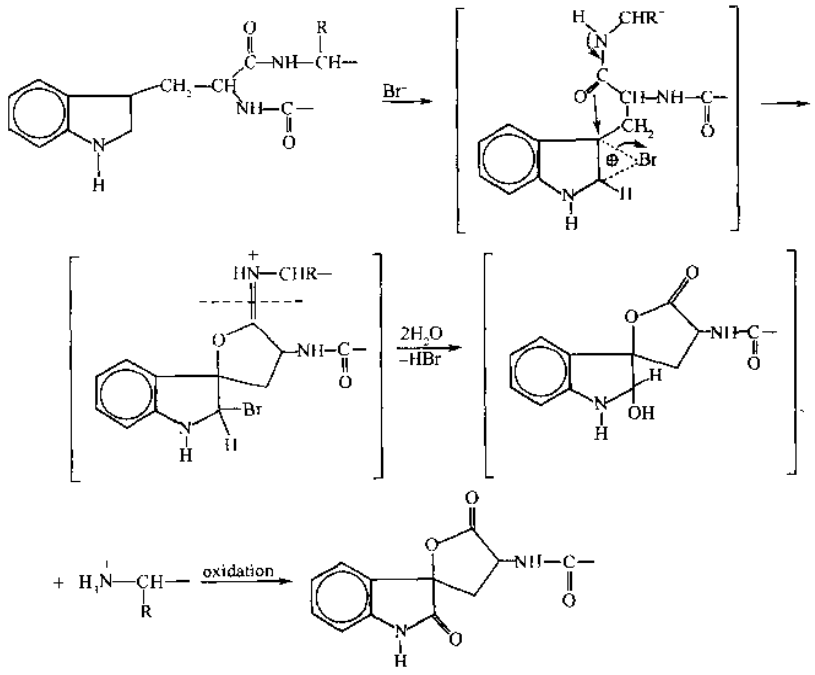


图 11-25 BNPS-Skatole 降解 Trp 的反应

表 11-7 蛋白质的酶降解

裂解试剂	专一性
内肽酶 Lys-C	Lys-X[74]
Achromobacter 蛋白酶 I	Lys-X[75]
内肽酶 Arg-C	Arg-X[76]
内肽酶 Asp-N	X-Asp, X-cysteic acid[77]
Asn 内肽酶	Asn-X[78]
V8 蛋白酶	Glu-X[78], Asp-X[78]
胰蛋白酶	Lys-X, Arg-X
胰凝乳蛋白酶	Trp-X, Try-X, Phe-X, Leu-X, Met-X

引自：夏其昌．蛋白质化学研究技术与进展．北京：科学出版社，1997.16。

现以天花粉蛋白一级结构测定为实例[79],加以说明。

对天花粉蛋白(简称 TCS)的 N 端氨基酸残基分析表明,它是均一的 Asp,而 C 端氨基酸残基分析却出现了 Ala 与 Met 的不均一性,这表明该分子似至少由两条肽链组成。经胰蛋白酶酶解,高效液相色谱(HPLC)分离,手工微量顺序测定和羧肽酶酶解法并用计算机拟合,证明这两条肽链的 C 端顺序分别为:-Asn-Asn-Met-Ala-OH 与-Asn-Asn-Met-OH。从 TCS 的胰蛋白酶酶解碎片中确实分离到这两个 C 端碎片。又从整个分子的顺序分析可知,结晶天花粉蛋白由两条肽链组成,它们之间的差别在于其中一条肽链的 C 端比另一条少一个 Ala,其余的顺序都是相同的,即其中一条肽链由 247 个氨基酸残基组成,另一条则由 246 个氨基酸残基所组成。这种在 C 端缺少或多一个残基的现象也反映了植物蛋白微观非均一性。这两条肽链的性质很相似,很难用一般的分离手段将它们分开,并共存在于天花粉蛋白的结晶中。分析从不同季节与批号采集的天花粉制得的结晶天花粉蛋白,发现两条肽链的比例不尽相同,但是它们的引产活性却是基本相同的,这在一定程度上也反映了肽链 C 端的 Ala 对分子的引产活性似无明显的影响。

最近用质谱技术也证明了天花粉蛋白 C 端微观不均一性。结晶天花粉蛋白用基质辅助激光解析飞行时间质谱测定其分子质量为 27 138 Da,计算值为 27 141 Da,仅差 3 Da。电喷雾电离质谱有较高分辨率,结晶天花粉蛋白的质谱出现明显的两个峰,分别为 27 142.8(247 个氨基酸残基)和 27 075.5(246 个氨基酸残基),其中相差 67.3Da,与 Ala 残基分子质量 71Da 仅差 3.7Da,在实验误差范围之内。因此,从质谱结果也完全证明天花粉蛋白的一条链为 247 个氨基酸残基,另一条链为 246 个氨基酸残基,两者只差 1 个 Ala(图 11-17)。

从氨基酸组成分析知道,天花粉蛋白有 4 个 Met、10 个 Lys 和 13 个 Arg 残基。因此在用蛋白质自动顺序分析仪测定整个蛋白质分子 N 端顺序的同时,选用溴化氰专一性地降解 TCS 中 Met 残基的羧端,使整个分子断裂成 4 个肽的片段(简称 CB1、CB2、CB3 和 CB4,合并称为 CB 片段)及一些游离的 Ala。这些片段曾用不同的分子筛与离子交换柱进行了层析分离。由于天花粉蛋白 CB 片段在一般缓冲液中溶解度极小,使它们的分离遇到一定的困难。为了改善 CB 片段的溶解度,曾将天花粉蛋白先琥珀酰化,再用溴化氰降解,这样产生的 *N*-琥珀酰天花粉蛋白 CB 片段(ST-CB 片段)能在葡聚糖凝胶 G-75 柱上分为 6 个峰(图11-26)。其中峰Ⅲ、Ⅴ和Ⅵ的 N 端氨基酸残基经分析鉴定,分别为 Val、Arg 和 Gly。这些片段经鉴定是相当于天花粉蛋白溴化氰降解的 CB4、CB3 和 CB2。由于这些片段在 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳谱上呈现多重峰,因此又将天花粉蛋白溴化氰降解物溶于含 8 mol/L 尿素的 10% 乙酸中,并选用 Sephacryl S-200 柱(2.4 cm×180 cm)进行层析分离。经分析,峰Ⅲ为 CB4,峰Ⅰ为 CB1,峰Ⅴ为 CB3,峰Ⅵ为 CB2。

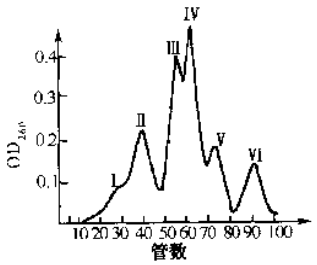


图 11-26 溴化氰降解琥珀酰天花粉蛋白的肽段经葡聚糖 G-75 柱
(Buffer:0.03 mol/L Tris,0.02 mol/L $MgCl_2$,0.35 mol/L KCl)的层析谱

将结晶天花粉蛋白经加热和尿素变性后,用胰蛋白酶酶解,得溶液和沉淀两个部分,分别用 HPLC 分离,将从各峰收集的肽段的冻干粉用 DABITC/PITC 双偶合法手工顺序测定四步以上顺序,以确定这些肽在天花粉蛋白顺序中的位置。经顺序测定证明已分离得到所有胰蛋白酶酶解肽段 T1～T21(图 11-27,图 11-28)。

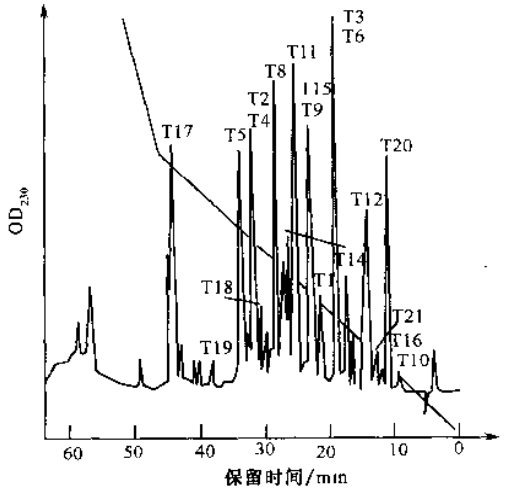


图 11-27 结晶天花粉蛋白胰蛋白酶酶解溶解部分的 HPLC 谱

样品:TCS TF-2 层析柱:μ Bondapak C_{18} 10 mm×30 cm 洗脱缓冲液:A 0.1 %TFA-H_2O. B 0.08% TFA-80% MeCN 洗脱梯度:0~43~50~55~58(min),0~65~100~100~0(B%)检出波长:230 nm 流速:3 mL/min 灵敏度:0.7 AUFS/10 mV

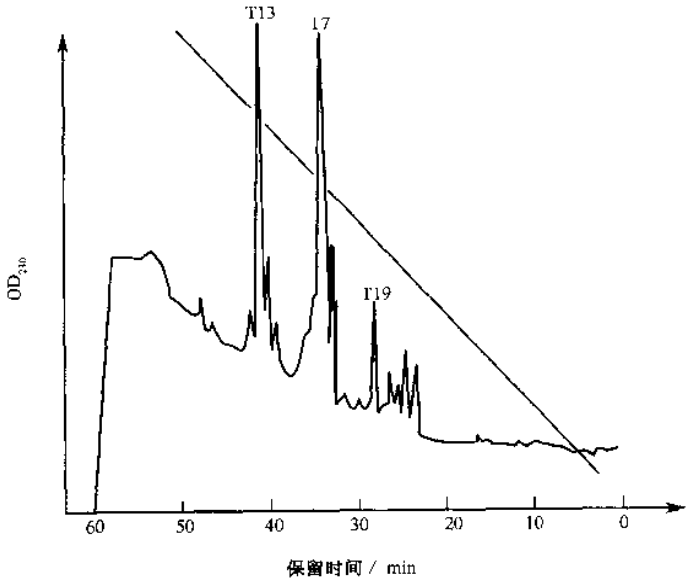


图 11-28 结晶天花粉蛋白胰蛋白酶酶解不溶部分的 HPLC 谱

样品:TCS TBP3(用 TFA 溶解,冲稀至 66%TFA 浓度进样) 其他条件同图 11-27

CB1 顺序的测定:整个天花粉蛋白用顺序仪(Bekman 890C)测定了 33 个氨基酸残基的顺序,通过天花粉蛋白胰蛋白酶酶解肽段用 HPLC 分离得到的 T5 和 T7 肽的顺序测定结果,纠正了 1985 年的结果,34 位应为 Ile 而不是 Leu,37 位应为 Leu 而不是 Ile,漏了 59~61 的 Thr、Ile、Ser,删去 69 位后多出了的一段肽 Asp-Ala-Gly-Leu-Pro-Arg-Asn-Ala-Val-Leu;纠正后的 T5 顺序为 Leu-Tyr-Asp-Ile-Pro-Leu-Leu-Arg,T7 顺序应为 Tyr-Ala-Leu-Ile-His-Leu-Thr-Asn-Tyr-Ala-Asp-Glu-Thr-Ile-Ser-Val-Ala-Ile-Asp-Val-Thr-Asn-Val-Tyr-Ile-Met-。CB1 的 C 末端的测定是将其经琥珀酰化后用羧肽酶 A 酶解。从酶解动力学曲线(图 11-29)可看出,首先释放的是 Hse,紧接着是 Ile 和 Tyr,然后是 Val,再后释放的氨基酸在分析谱上 Ser 位置有一较宽的峰,常同 Asn、Gln 等重叠,最后释放的是 Thr。为鉴定其中宽峰的组分,进一步采用 OPA(邻苯二甲醛)荧光法测定其酶解后不同时间释放的氨基酸含量,其结果如表 11-8 所示。从这些数据得出 CB1 的羧端顺序应为 Thr-Asn-Val-Tyr-Ile-Hse-OH。综上所述,CB1 的顺序如图 11-30 所示。

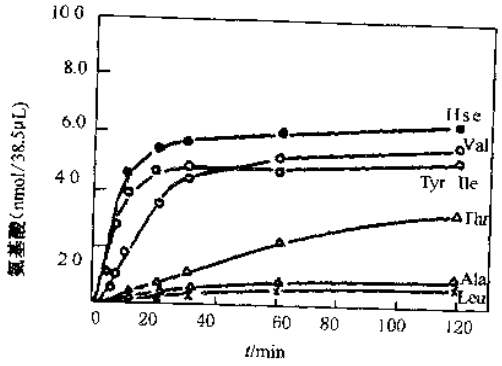


图 11-29　琥珀酰 CB1 的羧肽酶 A 酶解动力学曲线

5.8 mg 琥珀酰化 CB1 溶解在 2 mL 缓冲液中，加 40 μg *n*-Leu，29 μg 羧肽酶 A，37 ℃酶解反应

表 11-8　琥珀酰 CB1 的羧肽酶 A 酶解液用 OPA 荧光法分析结果

时间 /min	每 5 μL 释放氨基酸/pmol					
	Asn	Hse	Thr	Tyr	Val	Ile
6	2.54	40.83	0.84	9.44	5.67	17.62
10	7.01	61.44	2.57	13.25	11.31	24.27

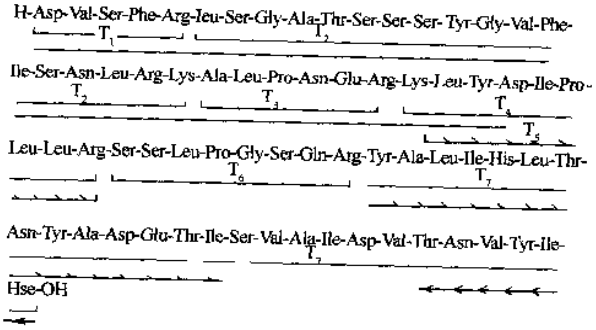


图 11-30　溴化氰降解 CB1 肽顺序

——为顺序仪直接测定 T 为胰蛋白酶酶解肽顺序 ←←← 羧肽酶 A 法测定的顺序

CB2 顺序的测定：CB2 片段经顺序仪分析已确定其氨端 16 个氨基酸残基(TCS 73～88)的顺序。它的 SV8 酶酶解片段的分析提供了天花粉蛋白 TCS 73～83 和 91～100 两片段顺序(图 11-31)，它们又被 CB2 的 α-胰凝乳蛋白酶酶解碎片的顺序(TCS 83～92)重叠交盖，这样，CB2 的 28 个氨基酸残基的顺序(TCS 73～100)就确定了(图 11-31)。

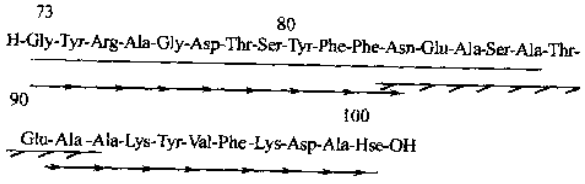


图 11-31　溴化氰降解 CB2 肽段的顺序

——自动顺序仪直接测定 →→→ SV8 蛋白酶酶解片段顺序 ⇢⇢⇢ α-胰凝乳蛋白酶酶解片段顺序

CB3 顺序的测定：CB3 片段的直接顺序仪测定提供了其 N 端 19 个残基(TCS 101 ~ 119)的顺序。胰蛋白酶酶解肽 T12 经顺序测定纠正了 120 位应为 Lys 而不是 Gly，121 位应为 Ile 而不是 Leu。它的胰蛋白酶酶解碎片的分析又产生了与上述肽段交盖的 23 个残基(TCS 123 ~ 145)的顺序。其余的残基顺序是由 CB3 的 SV8 酶酶解碎片的分析与它的 C 端顺序应用计算机辅助的羧肽酶 A(CpA)法分析提供的 TCS 146 ~ 152 顺序而确定的(图 11-32)。

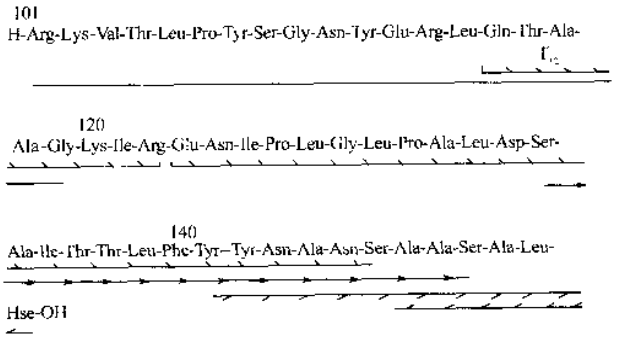


图 11-32 溴化氰降解 CB3 肽段的顺序

— 顺序仪直接测定 →→→ SV8 蛋白酶酶解碎片 ⟿ 计算机辅助 CpA 酶法测定

⟿ 胰蛋白酶酶解片段顺序 ⟿ α-胰凝乳蛋白酶酶解片段顺序

CB4 顺序的测定：CB4 片段的顺序仪分析提供了 20 个残基的 N 端顺序(TCS 153 ~ 172)。天花粉蛋白经胰蛋白酶酶解后，用 HPLC 分到的 T15、T17、T18 和 T19 肽段都用顺序仪测定，其结果如下：T15 Phe-Ile-Glu-Gln-Gln-Ile-Gly-Lys；T17 Thr-Phe-Leu-Pro-Ser-Leu-Ala-Ile-Ile-Ser-Leu-Glu-Asn-Ser-Trp-Ser-Ala-Leu-；T18 Gln-Ile-Gln-Ile-Ala-Ser-Thr-Asn-Asn-Gly-Gln-Phe-和 T19 Val-Thr-Ile-Thr-Asn-Val-Asp-Ala-Gly-Val-Val-Thr-Ser-Asn-Ile-Ala-Leu-Leu-Leu-Asn-Arg。从 T15 肽顺序中纠正了 173 为 Lys 而不是 Ser，从 T17 肽的顺序显示 TCS 190 ~ 194 应为-Asn-Ser-Trp-Ser-Ala-而不是-Ser-Leu-Trp-Leu-Ala。又用 BNPS-Skatole 降解琥珀酰化天花粉蛋白 Trp 的羧端，降解产物经制备性聚丙烯酰胺凝胶电泳分离后可得大、小两个片段，用顺序仪测定小片段 N 端第 1 位为 Ser，大片段 C 端第 2 位为 Ser，没有检出 Leu。此结果与胰蛋白酶酶解肽 T17 顺序测定结果一致。从 T18 肽中纠正了 208 位为 Gln 而不是 Thr。T19 是在 1985 年文献中被遗漏的 21 肽。

汪猷等和张麟华硕士论文中已经证明天花粉蛋白羧端具微观不均一性，有两个羧端-Asn-Asn-Met-(Ala)-OH 和-Asn-Asn-Met-OH。1986 年孙小俭博士论文中和 1990 年叶国杰的博士工作先用羧肽酶 A 酶解琥珀酰化天花粉蛋白，切去-Asn-Asn-Met-(Ala)-OH 制成"去尾"琥珀酰化天花粉蛋白，然后再用羧肽酶 B 切去 Arg，置沸水中使羧肽酶 B 失活，再加羧肽酶 A 继续进行酶解，测定其动力学曲线见图 11-33。其酶解液氨

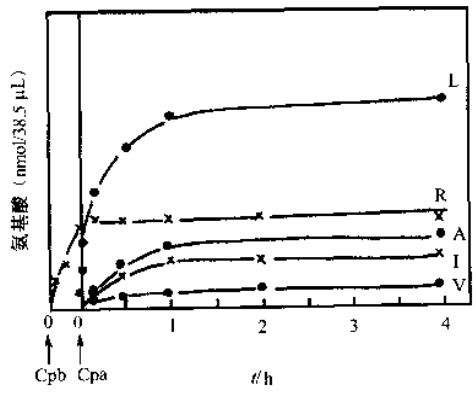


图 11-33 "去尾"琥珀酰化天花粉蛋白的 CpB 和 CpA 酶解曲线

基酸组成分析见表 11-9。从上述结果并结合天花粉蛋白胰蛋白酶酶解片段 T19 的序列结果，天花粉蛋白的羧端顺序为-Ile-Ala-Leu-Leu-Leu-Asn-Arg-Asn-Asn-Met-(Ala)-OH。

表 11-9　"去尾"天花粉蛋白 CpB/CpA 酶解 120min 及 240min 时氨基酸组成

取样时间	释放氨基酸/(nmol/38.5 μL)										
/min	Asp	Thr	Ser	Glu	Asn	Gly	Ala	Val	Ile	Leu	Arg
120	0.792	1.432	1.242	0.317	3.420	0.700	1.991	0.730	1.857	6.512	3.210
240	1.327	1.576	0.998	—	4.353	0.694	2.310	1.352	2.228	7.380	3.226

综合上述结果，天花粉蛋白的 CB4 顺序如图 11-34 所示。

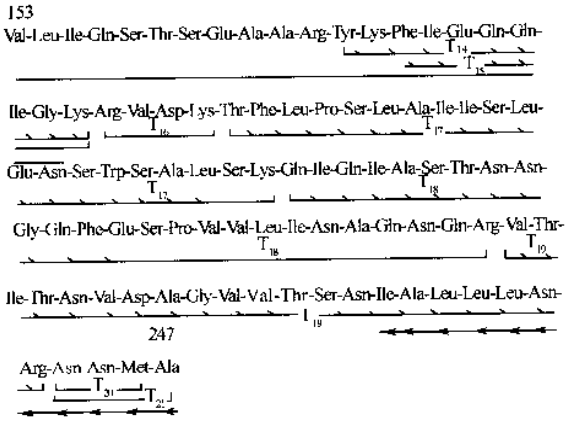


图 11-34　溴化氰降解 CB4 肽段的顺序

——顺序仪直接测定←←←胰蛋白酶酶解顺序←←←羧肽酶 A、B 法测定顺序

确定了 CB1、CB2、CB3 及 CB4 的顺序之后，剩下的是它们之间在 TCS 中的排列次序问题。由于 CB1 的 N 端顺序与天花粉蛋白一致，CB4 的 C 端顺序又与天花粉蛋白相同，因此它们就是 TCS 的 N 端和 C 端两个片段。又从 N 酰化的天花粉蛋白的 α-胰凝乳蛋白酶酶解碎片中分离得到一肽段，其顺序为 Ile-Met-Gly-Tyr-Arg，从它的 α-胰凝乳蛋白酶，胰蛋白酶酶解碎片中分离到另一肽段，其顺序为 Tyr-Tyr-Asn-Ala-Asn-Ser-Ala-Ala-Ser-Ala-Leu-Met-Val-Leu-Ile，以及从它的 SV8 酶酶解碎片中分离到的一肽段的顺序为 Ala-Met-Arg-Lys-Val-Thr-Leu-Pro-Tyr-Ser-Gly。这些肽段正好在天花粉蛋白 71～75、141～155 和 99～109 的位置，分别连接了 CB1 和 CB2、CB3 和 CB4、CB2 和 CB3 的顺序，使整个天花粉蛋白的一级结构得到确定(图 11-35)。

综上所述，天花粉蛋白是一个由 247(246)个氨基酸残基组成的具有不同 C 端氨基酸残基的两种单一多肽链，相对分子质量为 27 141。分子中有较高含量的疏水性氨基酸残基，使这个蛋白质分子及其溴化氰降解片段具有特殊的溶解度性质。

5. 蛋白质结构与功能的研究

测定蛋白质的一级结构不是其最终目的，主要是要研究结构与功能的关系，从而改造其结构，使其生物活性更强，副反应更少。要研究蛋白质结构与功能关系不仅要研究其一级结构，更重要的还要研究其三维结构。天花粉蛋白的三维结构也研究得比较清楚[80]。天花粉蛋白分子由两个结构域组成，含 8 段 α 螺旋和 13 条 β 链。这些 α 螺旋相对集中在蛋白质分子的中央，由 13 条 β 链所构成的 4 个 β 折叠层则分布在蛋白质分子的表面，这是天花粉蛋白分子三维结构的显著特点。天花粉蛋白分子三维结构飘带图见图 11-36。

夏宗芗等测定了天花粉蛋白与一系列底物类似物的复合物的三维结构[81,82]，其中天花粉蛋白与辅酶Ⅱ(NADPH)的复合物是迄今国内外测定的 RNA *N*-糖苷酶与底物类似物的复合物中惟一未发生酶反应的高分辨率结构，因而给出了活性中心的详细的结构信息：辅酶Ⅱ的腺嘌呤核苷酸部分位子活性中心凹槽中，腺



图 11-35 天花粉蛋白的一级结构 T 为胰蛋白酶酶解肽段



图 11-36 天花粉蛋白分子三维结构飘带图

嘌呤环夹在 Tyr70 和 Tyr111 两个侧链苯环之间，腺嘌呤核苷与 Arg163 和 Glu160 的侧链形成氢键，因而这四个氨基酸残基是天花粉蛋白最重要的活性部位。此外，在这个复合物中首次发现了一个可以合理地解释为参与水解 *N*-糖苷键的水分子。在对天花粉蛋白及其一系列复合物的三维结构进行比较的基础上，探讨了 RNA *N*-糖苷酶的催化机制：第一步是在带正电荷的 Arg163 侧链的诱导下，腺嘌呤环带有部分正电荷，并离域化而削弱了 *N*-糖苷键，并被带负电荷的 Glu160 所稳定，同时一个水分子进入活性中心，与 *N*-糖苷键预结合；第二步，水分子对 *N*-糖苷键的带有部分正电荷的 C_1' 发生亲核进攻，使 *N*-糖苷键断裂；第三步，水分子的羟基与 C_1' 结合，糖环离去，同时水分子的一个氢原子与 N9 结合，腺嘌呤脱下，水分子消失，在这过程中，Tyr70 的侧链旋转约 70°，使产物腺嘌呤稳定地结合在活性中心凹槽中。

聂慧玲等[83]用蛋白质工程方法研究了一系列天花粉突变体蛋白，发现有些突变化蛋白抗原性降低，活性不变。这些都为进一步研究天花粉蛋白结构与功能关系提供了物质基础。这些可详见文献[83]。

总之，在天然产物中，其活性成分多肽，蛋白质越来越被人们所重视，因此在本书第二版中增加了这些内容。

参 考 文 献

[1] Kreil G. Ann Rev Biochem, 1997, 66: 337
[2] Kuroda Y et al. J Antibiotics, 1980, 33: 259
[3] Rosenthal G A. Plant Nonprotein Amino and Imino acids, New York: Academic Press, 1982
[4] Parameswaran P S et al. J Nat Prod, 1997, 60: 802
[5] Taddei A et al. J Antibiotics, 1997, 50: 256
[6] Gray N R. Methods in enzymology. New York: Academic Press, 1972, 25, Part B: 121
[7] 夏其昌等. 蛋白质化学研究技术与进展. 北京：科学出版社，1997, 80
[8] Caplow M. J Am Chem Soc, 1968, 90: 6795
[9] Morrow J S et al. J Biol Chem, 1974, 249: 7484
[10] Schott H F et al. J Biol Chem, 1952, 196: 449
[11] Goodman M et al. Biopolymers, 1996, 40: 183
[12] Haradaet al. Bull Chem Soc Japan, 1983, 56: 653
[13] Barrett G C. Chemistry and Biochemistry of the Amino Acids, New York: Chapman and Hall, 1985, 365
[14] Dawson R M et al. Data for Biochemical Research. London: Oxford University Press, 1969
[15] 常碧影等. 分析化学，1993, 21: 1220
[16] Bellamy L J. The Infrared Specfra of Complex Molecules, New Yosk: John Wiley, 1975, 3(1): 263
[17] 刘淑莹等. 物理化学学报，1997, 13: 252
[18] Biemeun K et al. J Am Chem Soc, 1961, 83: 3795
[19] Ken-ichi Haradaet al. Tertrahedron lett, 1995, 36: 1515
[20] 夏其昌等. 蛋白质化学研究技术与进展. 北京：科学出版社，1997, 165
[21] 立冈末雄. 日本化学会编，1958, 22: 339
[22] Nitta I et al. Nature, 1958, 181: 761
[23] 陈思义等. 科学，1948, 30: 329
[24] Dwan Y C et al. Acta Pharmaceutica Sinica, 1957, 5: 87
[25] 徐任生等. 中草药有效成分的提取和分离. 上海：上海人民出版社，1972, 295
[26] 潘百川等. 中国科学，1976: 602
[27] 竹本常松等. 药学杂志(日)，1975, 95: 448
[28] 顾学钦等. 化学学报，1985, 43: 675
[29] 包琴珠等. 微生物学报，1981, 21: 218
[30] Stapley E O et al. Antumicrob Agents and Chemother, 1967, 4: 401
[31] Chilton W S et al. Biochemistry, 1984, 23: 3290
[32] 周维善等. 药学学报，1982, 17: 466
[33] Schmid H et al. Helv ChimActa, 1945, 28: 722
[34] Liu S Y et al. Sino-France Symposium on Neuroscience, 1987, Abstracts: 30
[35] 叶蕴华等. 北京大学学报(自然科学版)，1996, 26: 207
[36] 龚岳亭. 生物活性肽. 北京：科学出版社 1985, 40

[37] Erspamer V. Trends in Neurosci, 1983, 6: 200
[38] 杜雨苍. 神经肽与脑功能. 上海: 上海科技教育出版社, 1998, 7
[39] Brockma H et al. ChemBer, 1955, 88: 57
[40] Shiba T et al. Peptide Chemistry, 1988, 337
[41] Wieland T, Bodanszky M. The world of peptides. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 1991, 211
[42] Milles C, Rivies J. Biopolymers, 1996, 40: 265
[43] Schally A V et al. Biochem Biophycs Research Communications, 1971, 43: 393
[44] Bergmann M, L. Zervas Ber, 1932, 65: 1192
[45] Carpino L A. J Am Chem Soc, 1957, 79: 98
[46] Carpino L A et al. J Am Chem Soc, 1970, 92: 5748
[47] Bodanszky M. Nature, 1955, 175: 685
[48] Anderson G W et al. J Am Chem Soc, 1963, 85: 3039
[49] Kovacs J et al. J Am Chem Soc, 1967, 89: 183
[50] Sheehan J C et al. J Am Chem Soc, 1955, 77: 1067
[51] Castro B. Tetrahedron Lett, 1975: 1219
[52] Li Pet al. J Peptide Research, 2001, 58: 129
[53] Li Pet al. Tetrahedron, 2000, 56: 8119
[54] Mennifield R B. J Amer Chem Soc, 1964, 86: 304
[55] 汪猷. 天花粉蛋白. 第二版. 北京: 科学出版社, 2000, 242
[56] McGrth M S et al. Proc Natl Acad Sci, U. S. A. 1989, 86: 2844
[57] 张劲松等. 生物化学与生物物理进展, 1991, 18: 51
[58] 汪猷. 天花粉蛋白. 第二版. 北京: 科学出版社, 2000, 129
[59] 金善炜等. 化学学报, 1981, 39(9): 917
[60] Jin S W et al. Chinese J Chem, 1997, 15: 160
[61] Weber K et al. J Biol Chem, 1969, 244: 4406
[62] Reisfeld R A et al. Nature, 1962, 195: 281
[63] Chang J Y et al. F E B S Lett, 1978, 93: 205
[64] Ambler R P. In: Hirs C H W and Timarheff S N ed Methods in enzymology, 1972, 25: 143
[65] Akabori S et al. Bull Chem Soc Japan, 1956, 29: 507
[66] Stark G R. In: Hirs C H W and Timarheff S N ed Methods in enzymolgy, 1972, 25: 369
[67] 李一莉等. 有机化学, 1996, 16: 209
[68] Li Y L et al. Chinese J Chem, 1999, 17(5): 516
[69] Haglund H. In: Glick D ed Methods of biochemical analysis, Interscience, 1971, 19: 33
[70] Edman P et al. J Bio Chem, 1967, 1: 80
[71] Kamp R M 等蛋白质结构分析. 施蕴渝等译. 北京: 科学出版社, 2000, 94;
天花粉小组(中国科学院上海有机化学研究所)有机化学 1982, 384
[72] Gross E et al. J Am Chem Soc, 1961, 83: 1510
[73] Omenn G S et al. J Biol Chem, 1970, 245: 1895
[74] Jekel P et al. Anal Biochem, 1983, 134: 347
[75] Masaki T et al. Biochim Biophys Acta, 1981, 660: 44
[76] Levy Met al. Methods Enzymol, 1970, 19: 672
[77] Drapeau G R. J Biol Chem, 1980, 255: 839
[78] Hournand J et al. Proc Natl Acad Sci, U S A 1972, 69: 3506
[79] 汪猷等. 化学学报, 1993, 51: 1023
[80] 汪猷. 天花粉蛋白. 第二版. 北京: 科学出版社, 2000, 57
[81] Xiong J P et al. Nature struc Biol, 1994, 695
[82] Gu Y J et al. Proteins: Struct Funct Genet, 2000, 1: 37
[83] 汪猷. 天花粉蛋白. 第二版. 北京: 科学出版社, 2000, 225

(胡昌奇, 金善炜, 徐杰诚)

第十二章　碳水化合物

第一节　概　　述

碳水化合物(carbohydrate)广泛存在于自然界,是各种生物的重要组成成分。从量上来讲,碳水化合物是地球上最大量的一类有机物。据估计,地球上的绿色植物每年净产有机物 $15\times10^{10}\sim20\times10^{10}$ t,其中纤维素约占 1/2;存在于节肢动物的甲壳和真菌细胞壁中的几丁质每年也约有 1×10^{10} t 生成。人们熟知的重要的碳水化合物还有:植物光合作用产生的葡萄糖,是动植物主要的能量物质和碳源;大米和小麦等食用植物中的淀粉,是人类主要的食物;甘蔗和甜菜中的蔗糖,是人类主要的甜味剂;脱氧核糖和核糖是一切生物的遗传物质 DNA 和 RNA 的重要成分……然而,碳水化合物的存在和作用远非这些常识所能包括。现代分离分析技术、化学和生物学的迅猛发展已揭示出了一个全新的、五彩缤纷的碳水化合物世界。

首先,碳水化合物无所不在,并且不仅仅以单糖(如葡萄糖)、寡糖(如蔗糖)和多糖(如淀粉、纤维素和几丁质)的形式存在,更多是与其他非糖分子共价相连(称作糖苷或糖缀合物)。例如,植物的各种次生代谢产物(狭义的天然产物)大都有糖苷化的存在形式;动物中蛋白质的糖基化也是非常普遍的现象。其次,碳水化合物结构的复杂性和多样性是惊人的,超过具有线性结构的核酸和蛋白质。还有,碳水化合物的功能决非仅仅在于能量存储和结构支撑上,一般来说,糖缀合物中的碳水化合物影响了非糖部分的生理过程和功能,并且,在很多时候起到分子识别的作用。这种糖的识别作用涉及生命的几乎全部的时间和空间过程,如受精、着床、分化、发育、免疫、感染、癌变、衰老等。近 20 年来逐渐形成的糖生物学(glycobiology)作为一门新学科正是研究这些内容[1,2]。

对于碳水化合物的研究起始于 19 世纪末,E. Fischer 利用化学转化、旋光和熔点相关等原始的化学研究手段阐明了六碳糖的结构,这一工作奠定了糖化学的基础[3]。20 世纪 30 年代,Haworth 和 Hudson 等提出了单糖的三维结构模型并引入"构象"(conformation)这一概念,大大地强化了碳水化合物研究的基础[4]。这些研究也是有机化学发展历史上的关键性事件。由于糖的水溶性、难结晶和立体化学的复杂性等原因,随后的大量工作花在分离、纯化和结构测定上,碳水化合物的研究进展十分缓慢。如 1937 年鉴定了氨基葡萄糖的结构;1945 年鉴定了氨基半乳糖的结构;到 1959 年才鉴定了唾液酸的结构。在 20 世纪 30 年代末才明确了糖蛋白的存在;20 世纪 50 年代才开始对糖脂、蛋白聚糖等进行较深入的结构研究。Leloir 于 1950 年发现寡糖在生物体内是由糖基转移酶以糖基焦磷酸核苷为给体催化合成的,这可能是迄今糖生物学研究中最重要的事件[5,6]。Fischer、Haworth 和 Leloir 由于对碳水化合物的研究而先后获得诺贝尔奖。

在碳水化合物的研究历史上另一个重大的事件是在 1975 年前后发现糖缀合物的微观不均一性(microheterogeneity)[1,2]。如对一个糖蛋白来讲,其肽链的氨基酸顺序是一定的,其中的糖基化位点也是一定的,但糖链的结构却不是一定的,而是一个具有一定特点的结构分布。糖脂、蛋白聚糖和植物糖苷等其他糖缀合物也有类似现象。这是由糖链的生物合成途径造成的,一般来说,一个糖基转移酶或糖苷水解酶决定一个糖苷键的生成或断裂,这与核酸和蛋白质的模板合成途径是有本质不同的。糖的微观不均一性给糖的分离、结构分析、生物工程制备等带来了极大的困难。

近年来,碳水化合物的分离主要依靠各种高效液相色谱;结构分析主要由核磁共振和质谱来完成。同时,各种生物学技术为碳水化合物结构和功能的研究提供了越来越多的手段,如糖基转移酶和水解酶的应用、抗体技术、基因转染(transfection)和基因剔除(knockout)等。由于碳水化合物的微观不均一性,在天然来源困难和有限的情况下,化学合成是提供各类结构碳水化合物的重要手段。在 20 世纪 80 年代以前,一个二糖的合成已是一个了不起的成就[7],现在任何复杂的寡糖都可以被合成,但相比核酸和多肽的自动化合成,寡糖的合成还很低效。总之,碳水化合物的研究已到了一个新的历史时期,研究手段和对结构与功能的认识期待新的突破。正如 2001 年 3 月 *Science* 关于碳水化合物专栏的标题写得那样:灰姑娘的马车已准备好了(*Cinderella's Coach is Ready*)[8]。

第二节 碳水化合物的结构

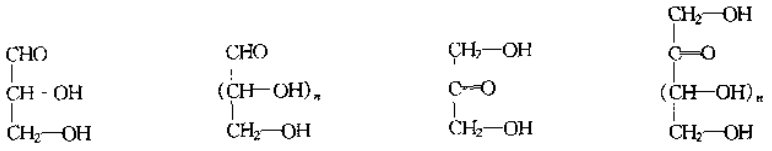
碳水化合物原意是指分子式可用 $C_x(H_2O)_y$ 来表示的一大类物质，包括广泛存在于木、棉、淀粉和果汁等中的大量物质。如葡萄糖的分子式为 $C_6(H_2O)_6$，蔗糖的分子式为 $C_{12}(H_2O)_{11}$ 等。后来发现有些化合物从化学结构和性质上看和碳水化合物相似，但不符合这一通式，如 6 位脱氧的鼠李糖，它的分子式为 $C_6H_{12}O_5$，按这一定义就不应属于碳水化合物。另有些化合物如乳酸、丙烯酸等的分子式符合这一通式但却不是碳水化合物。因此，碳水化合物这个名词按字面意义已不确切。糖(sugar)是这类化合物的另一常用的名称。

碳水化合物或糖是指天然存在的单糖、寡糖、多糖和它们的衍生物。寡糖和多糖是由两个以上的单糖脱水而成的，一般以十聚为界，但两者之间没有严格的界限，如果有精确的结构，即使相对分子质量高些仍可称为寡糖。在更多的时候，碳水化合物是与各类非糖分子的羟基、巯基、氨基和次甲基等以共价键相连的形式存在，当非糖部分较小时称糖苷化合物(glycoside)；当非糖部分较大时称作糖缀合物(glycoconjugate)，但二者之间也没有明确的定义。

单糖，主要是五碳糖(戊糖)和六碳糖(己糖)，是碳水化合物的基本单位。因此，了解单糖的结构是碳水化合物研究的基础。

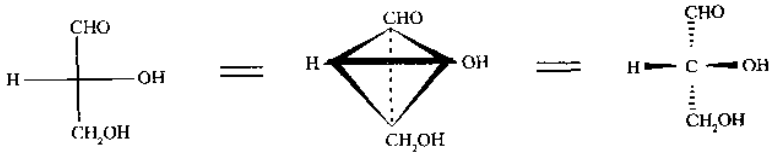
一、单糖的化学结构

单糖是指具有碳链骨架的多羟基醛或酮，前者称为醛糖(aldose)，后者称为酮糖(ketose)。最简单的醛糖是甘油醛(glyceraldehyde)，最简单的酮糖是二羟基丙酮(1,3-dihydroxyacetone)。甘油醛含有一个不对称中心，因此有两个立体异构体(对映异构体)，随着单糖分子中不对称碳数目的增加，其立体异构体的数目也成几何级数递增(2^n)，如四碳醛糖($n=2$)有四个(2^2)立体异构体，五碳醛糖有八个(2^3)，六碳醛糖则有十六个(2^4)。二羟基丙酮没有立体异构体，四碳酮糖($n=1$)有两个(2^1)，五碳酮糖就有四个(2^2)，六碳酮糖则有八个(2^3)。理论上说，由两个六碳醛糖缩合而成的二糖，其立体异构体的数目达到 1024 个(2^{10})，如果再考虑连接位置的不同可能，则有 6120 个异构体。



甘油醛　　醛糖　　二羟基丙酮　　酮糖

最早用来系统地反映单糖立体化学的是使用 Fischer 投影式。在 Fischer 投影式中，醛基被画在垂直碳链的顶部(酮基则靠近碳链的顶部)，羟甲基则被画在垂直碳链的底部。每个不对称碳原子的取代羟基平行于碳链。垂直的键表示朝向纸平面的背面，而水平的键则表示朝向纸平面的前面。如果最远离醛基或酮基(即最靠近底部的)的不对称碳的羟基朝右，则该单糖称为 D 型，反之则为 L 型。在尚无手段确定绝对构型的情况下，Fischer 人为地把右旋的甘油醛定为 D 型，并由此关联其他单糖的绝对构型。1951 年用 X 射线衍射测得右旋酒石酸盐晶体的立体构型[9]，证明 Fischer 幸运地猜对了单糖的绝对构型。



Fischer 投影式　　四面体结构式　　立体结构式

由于 Fischer 投影式的不直观性，这一惯例现仅用于碳水化合物和氨基酸。现在普遍使用 Cahn-Ingold-Prelog 即 CIP 惯例来描述立体异构体，即用前缀 *R*-或 S-来描述不对称碳原子的绝对构型。

图 12-1 和图 12-2 用 Fischer 投影式列出所有的三碳至六碳 D 型醛糖和四碳至六碳的 D 型酮糖的结构

（L型的单糖构型正好相反）。

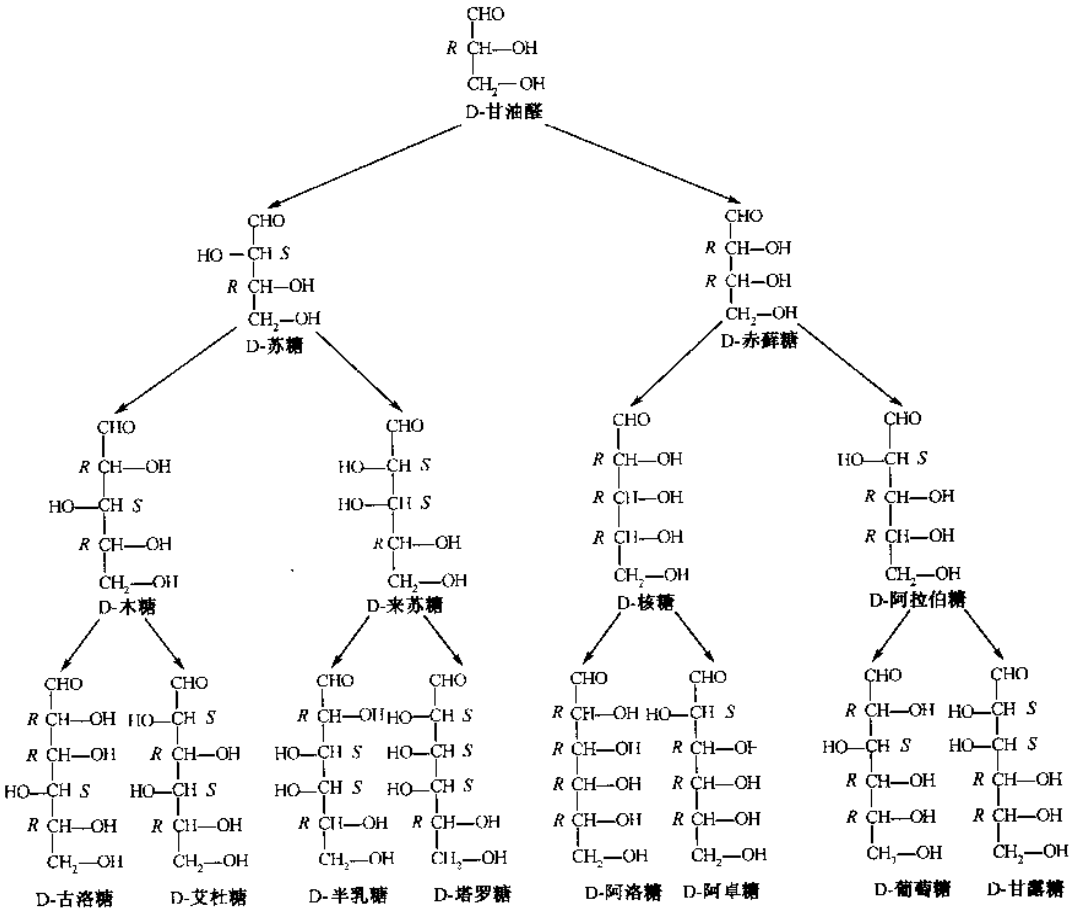


图 12-1　D型三碳至六碳醛糖的 Fischer 投影式

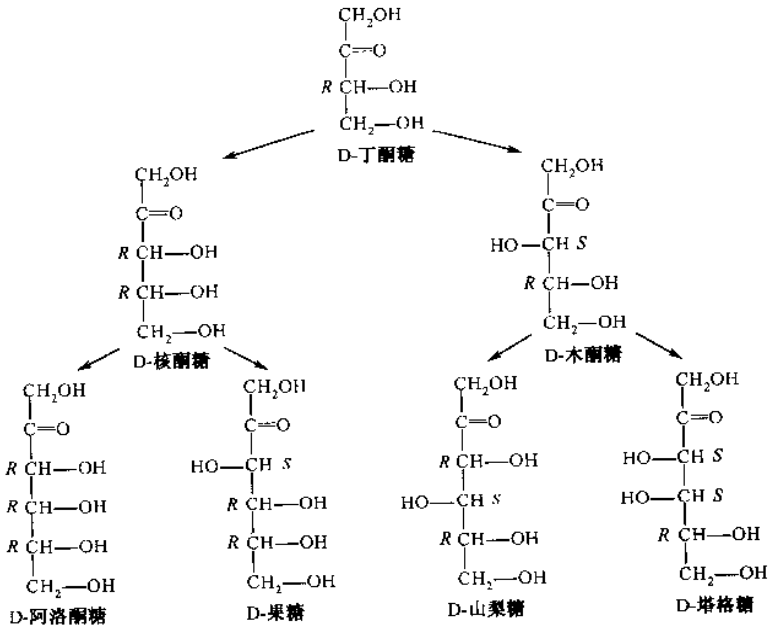


图 12-2　D型四碳至六碳酮糖的 Fischer 投影式

二、单糖的构型

事实上，单糖很少以上述 Fischer 投影式所示的链状结构存在。除了三碳糖之外，所有的单糖都能通过形成分子内半缩醛而形成稳定的五元(呋喃型)或六元环(吡喃型)结构。在晶体状态，所有的单糖正是以环状的半缩醛结构存在；只有在溶液中，才存在微量的开链的单糖。以 4-羟基丁醛和 5-羟基戊醛为例，在二氧六环水溶液中，开链醛与半缩醛达到平衡时，由紫外光谱测得开链醛的含量分别只占 11.4% 和 6.1%，这相当于环和非环状态下自由能之差分别为 1.2 kcal/mol 和 1.6 kcal/mol。对多取代基醛通过环化形成五元环和六元环的自由能降低就更加显著。这一现象称为环-链互变异构(ring-chain tautomerism)。常见单糖的水溶液在平衡时互变异构各组分的百分比如表 12-1 所示。

表 12-1 常见单糖的水溶液在平衡时互变异构各组分的百分比[11,12]

单 糖	温度/℃	环型				开链型/%
		α-吡喃型/%	β-吡喃型/%	α-呋喃型/%	β-呋喃型/%	
核糖(ribose)	31	21.5	58.5	6.5	13.5	0.05
阿拉伯糖(arabinose)	31	60	35.5	2.5	2	0.03
木糖(xylose)	31	36.5	63	<1	<1	0.02
来苏糖(lyxose)	31	70	28	1.5	0.5	0.03
赤五碳酮糖(*erythro*-pentulose)	20	—	—	62.8	20.4	16.8
苏五碳酮糖(*threo*-pentulose)	26	—	—	18.1	62.3	19.6
阿洛糖(allose)	31	14	77.5	3.5	5	0.01
阿卓糖(altrose)	22	27	43	17	13	0.04
葡萄糖(glucose)	31	38	62	—	0.14	0.02
甘露糖(mannose)	44	64.9	34.2	0.6	0.30	0.005
古洛糖(gulose)	22	16	81	—	3	—
艾杜糖(idose)	31	38.5	36	11.5	14	0.2
半乳糖(galactose)	31	30	64	2.5	3.5	0.02
塔罗糖(talose)	22	42	29	16	13	0.03
阿洛酮糖(psicose)	27	22	24	39	15	0.3
果糖(fructose)	31	2.5	65	6.5	25	0.8
山梨糖(sorbose)	31	93	2	4	1	0.25
塔格糖(tagatose)	31	71	18	2.5	7.5	0.3

由于在形成半缩醛时，分子中又增加了一个不对称碳原子，因此其异构体的数目又增加了 1 倍，这一不对称碳被称为异头碳或异头中心(anomeric C-atom or anomeric center)，半缩醛的羟基被称为乳醇基(lactol group)。在 Haworth 投影式中，以所形成的五元环或六元环平面为参照，D 型糖的乳醇基如果处在环的下方(也就是异头碳上的氢朝上)则称为 α 型；乳醇基在环的上方称为 β 型。对于 L 型糖则相反。以溶液中的葡萄糖为例，可发生如图 12-3 的互变异构，这一现象被称为变旋(mutarotation)[10]。

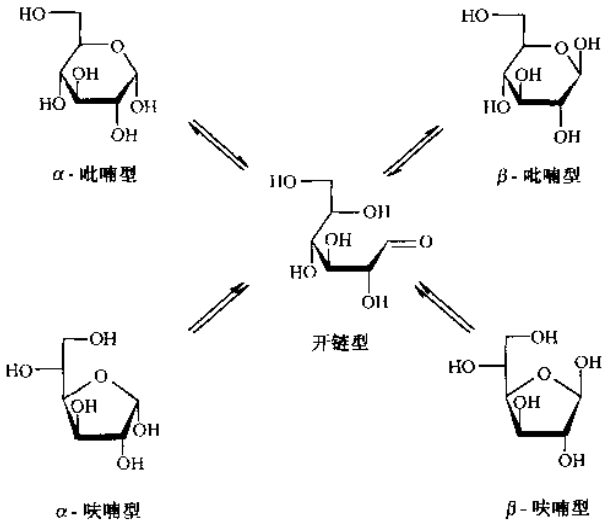


图 12-3　D-葡萄糖在水溶液中的主要互变异构体

对于六元环吡喃糖的立体构型，有一个特殊而重要的现象就是所谓的“异头碳效应”(anomeric effect)[13,14]。即对 D 型吡喃糖来说，异头位吸电子的取代基处于直立的 α 构型比相应的处于平伏的 β 构型在能量上有利(约低 3.0 kJ/mol)。这一效应与六元环上直立键立体不利的通常现象相反。对这一效应有两种解释：一是偶极效应，如图 12-4 所示，当吸电子取代基 X 处于 α 键时，相邻的两个偶极部分抵消，因而能量有利，而 X 处于 β 键时不能；二是电子共振效应，当取代基 X 处于 α 键时，异头碳与 X 成键的 δ^* 轨道共享环上氧原子的孤对电子($n\rightarrow\delta^*$)，而 X 处于 β 键时不能。在讨论糖苷键的选择性形成和断裂时，常常需要考虑异头碳效应。



图 12-4　吡喃糖的异头碳效应

用 Fischer 投影式对单糖环状结构的表示很不直观，也不真实，因而先后出现了 Haworth 透视式和 Mills 结构式的表示方法，而在六元环的状态下，用构象分子式(conformational fomulae)来表示则更清晰，可以清楚地显示出各取代基是处于平伏键还是直立键。以 D 型吡喃葡萄糖为例，给出不同的结构式描述，读者看到刊物中诸如下列的结构式所代表的分子是一样的。

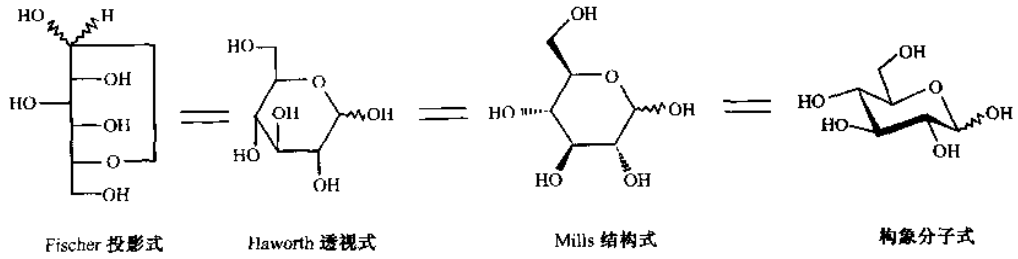


图 12-5 给出 α-D-三碳到六碳糖的呋喃和吡喃型结构，与 Fischer 投影式相比，除了真实、直观，也易于记忆和区别。在近期的文献中单糖及其衍生物常常以这样的形式来表示。

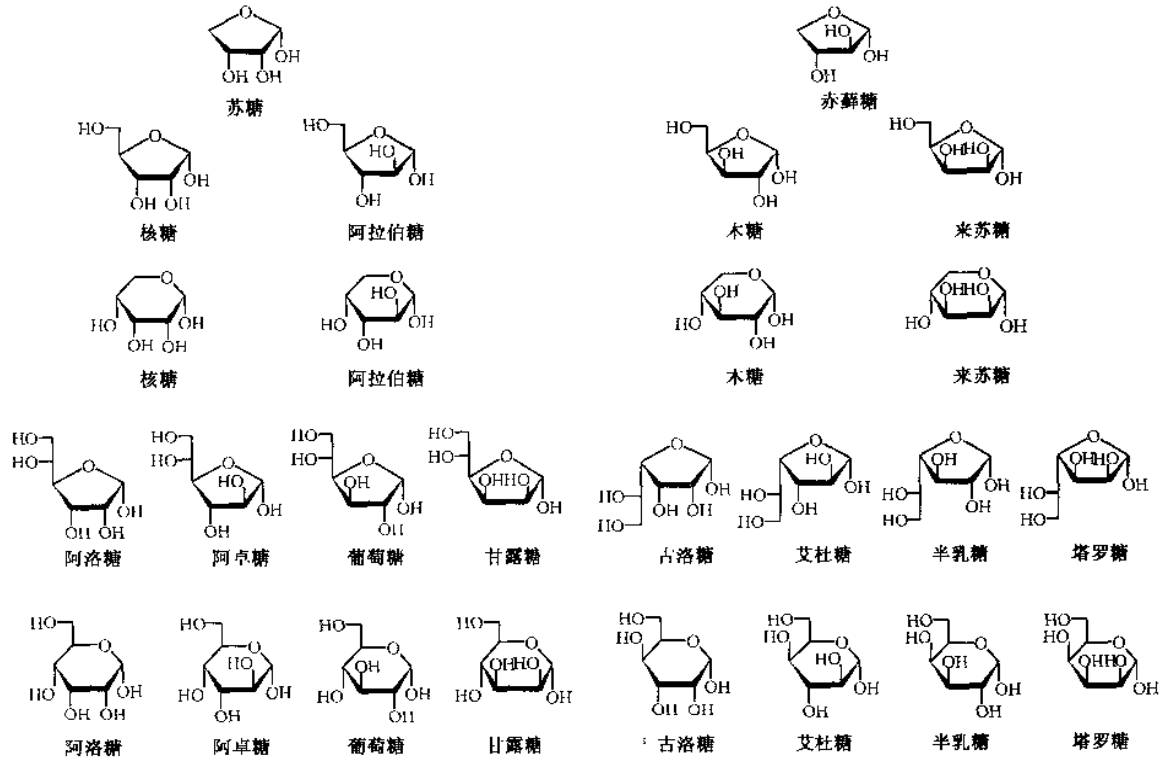
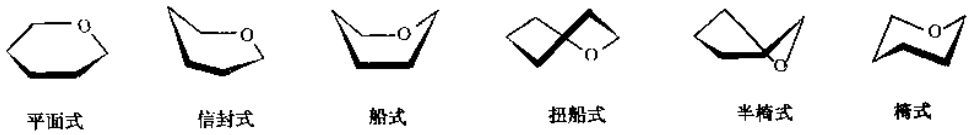
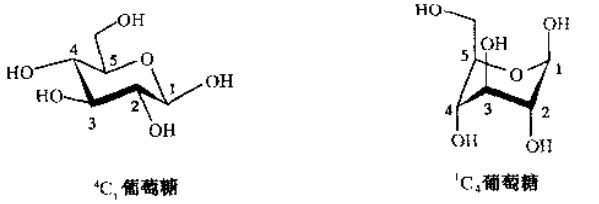


图 12-5 α-D-四碳至六碳呋喃和吡喃醛糖的 Haworth 透视式

三、糖的构象

吡喃糖环在理论上有无数多的不同构象，较直观的有以下六种，即平面式(plane)、信封式(envelope)、船式(boat)、扭船式(skew)、半椅式(half chair)和椅式(chair)。在平面式中，所有环上碳原子的取代基处于 Newman 投影式的重叠位置而能量最高，因此实际上平面式是检测不到的。处于椅式构象时，所有环上碳原子的取代基处于 Newman 投影式的交叉位置而能量最低，因此，是吡喃糖通常存在的构象。其他构象的能量处于两者之间。对于椅式构象，又有两种可能的排列方式：当观察以 C-2、C-3、C-5 和 O 所构成的平面，其数字大小按顺时针方向取向时，其中的 C-1 在环平面的下方、C-4 在环平面的上方时，这种构象称为$^4C_1$，而 C-1 在环平面的上方、C-4 在环平面的下方称为$^1C_4$。对 β-D-葡萄糖来说，分子处于$^4C_1$构象时，所有的羟基都位于平伏键，此时的能量最低，而当分子处于$^1C_4$构象时，所有的羟基都位于直立键，显然能量上不利。



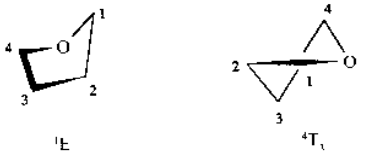


两种构象之间的相互转换要克服一定的能垒，如果这一能垒相当小，就有可能同时存在两种构象，表12-2列出所有的五碳、六碳吡喃糖的$^4C_1$和$^1C_4$构象的相互作用能的计算值和用核磁共振测定的实际存在构象[11,12]。

表12-2　常见单糖$^4C_1$和$^1C_4$构象的能量计算值和实际存在构象

单　糖	构　象		相互作用能的计算值/(kJ/mol)	
	核磁测定	计算结果	$^4C_1$	$^1C_4$
α-D-阿洛糖	$^4C_1$	$^4C_1$	16.38	25.47
β-D-阿洛糖	$^4C_1$	$^4C_1$	12.39	36.41
α-D-阿卓糖	$^4C_1$, $^1C_4$	$^4C_1$, $^1C_4$	15.33	16.17
β-D-阿卓糖	$^4C_1$	$^4C_1$	13.77	25.47
α-D-半乳糖	$^4C_1$	$^4C_1$	11.97	36.46
β-D-半乳糖	$^4C_1$	$^4C_1$	10.50	32.55
α-D-葡萄糖	$^4C_1$	$^4C_1$	10.08	27.51
β-D-葡萄糖	$^4C_1$	$^4C_1$	8.61	33.60
α-D-古洛糖		$^4C_1$	16.80	19.95
β-D-古洛糖	$^4C_1$	$^4C_1$	12.21	22.84
α-D-艾杜糖	$^4C_1$, $^1C_4$	$^4C_1$, $^1C_4$	18.27	16.17
β-D-艾杜糖		$^4C_1$	17.01	25.47
α-D-甘露糖	$^4C_1$	$^4C_1$	10.50	23.31
β-D-甘露糖	$^4C_1$	$^4C_1$	12.39	32.13
α-D-塔罗糖	$^4C_1$	$^4C_1$	14.91	24.78
β-D-塔罗糖		$^4C_1$	16.80	33.60
α-D-阿拉伯糖	$^1C_4$	$^1C_4$	13.44	8.61
β-D-阿拉伯糖		$^4C_1$, $^1C_4$	12.18	10.08
α-D-来苏糖	$^4C_1$, $^1C_4$	$^4C_1$, $^1C_4$	8.61	10.92
β-D-来苏糖	$^4C_1$	$^4C_1$	10.50	14.91
α-D-核糖	$^4C_1$, $^1C_4$	$^4C_1$, $^1C_4$	14.49	14.91
β-D-核糖	$^4C_1$, $^1C_4$	$^4C_1$, $^1C_4$	10.50	13.02
α-D-木糖	$^4C_1$	$^4C_1$	8.19	15.02
β-D-木糖	$^4C_1$	$^4C_1$	6.72	16.38

呋喃糖环在理论上也有无数多的构象，其中能量较低的构象有两种，即信封式(envelope)和扭曲式(twist)。在信封式构象中，包括氧原子在内有四个环原子几乎是共平面的，另一个环原子在平面之外，如^1E表示其构象为信封式，C-1位于C-2、C-3、C-4和O所构成的平面的上方。扭曲构象中三个相邻环原子共平面，其余两个环原子在该平面的上下方，如$^4T_3$代表扭曲式的构象，其中C-4在C-1、C-2和O所组成平面的上方，C-3在平面的下方，判断平面上下的规则与吡喃糖相同。呋喃糖与吡喃糖相比，不同构象之间的能垒相差很小。在溶液中，由于构象之间的快速互变(pseudorotation)，难以确定平衡时的优势构象。



^1E　　$^4T_3$

核酸和核苷中的D-核糖和D-脱氧核糖也存在各种信封式和扭曲式构象，通常是C-2或C-3突出在四个环原子平面之外，如果突出于平面的上方，这种构象称为内向式(endo-)，如果位于环平面的下方则称为外向式(exo-)。

除了糖环的构象之外，糖苷键也有一定的稳定构象，从而决定寡糖、多糖和糖缀合物的三维结构，这种三维结构是表现其功能所必需的。对于一个二糖来说，两个糖环的相对取向由两个转角 ϕ 和 ψ 控制，如果此二糖以伯羟基相连，如以六碳吡喃糖的 6 位羟基相连，C5—C6 单键的转角 ω 是另一个控制二糖构象的因素。单键的旋转受两端取代基空间范德华力的影响，因而有其稳定的构象。对于糖苷键的取向（ϕ 转角），却主要受所谓的“外-异头碳效应”（exo-anomeric effect）控制[15,16]。外-异头碳效应的本质与前面提到的异头碳效应是相同的，可理解为当 O1′的孤对电子占有轨道与 C1′—O5′键的 δ^* 轨道反平行时可发生 $n\rightarrow\delta^*$ 共振而能量有利（图 12-6）。

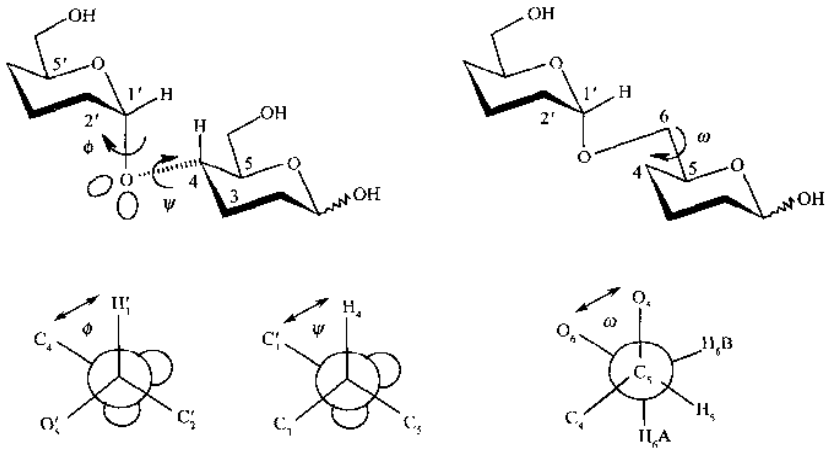
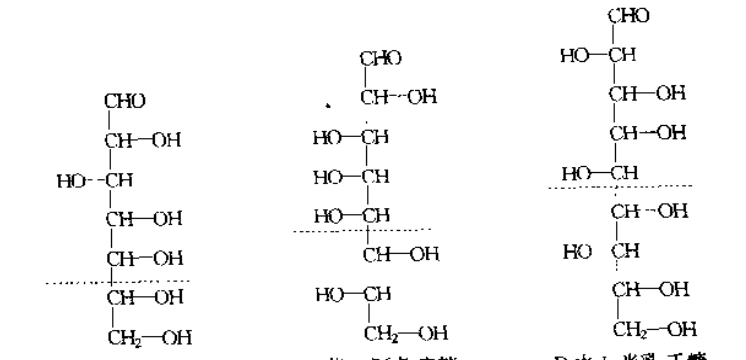


图 12-6 决定糖苷键构象的转角和外异头碳效应

四、糖的命名和缩写

如果按照有机化合物的系统命名规则，糖的名称将非常复杂，所以在糖类化合物的描述中，经常使用俗名。所有的三碳到六碳糖都由俗名来表示，其他糖类化合物的命名则主要建立在这些单糖俗名的基础上。即便如此，糖类的命名还是很复杂。在这里仅介绍一些最重要的规则，详细命名可参考 IUPAC 规则[17, 18]。

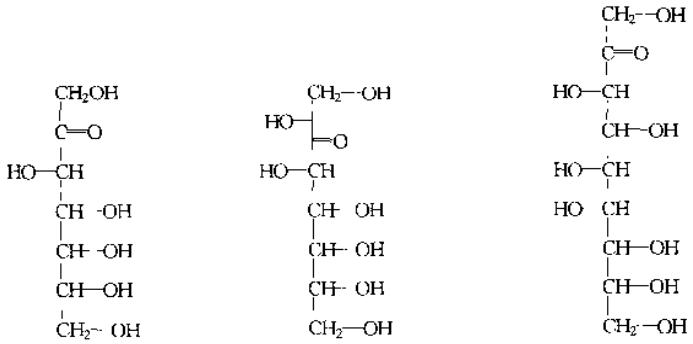
在英文中，醛糖字尾为-ose，酮糖字尾为-ulose；五元环呋喃糖为 furanose，六元环吡喃糖为 pyranose；前缀 D-和 L-表示糖环的构型；α-和 β-表示异头碳的构型。超过六个碳原子的单糖称为高碳糖，不过一般不会超过 10 个碳原子，命名时分为两组，靠近醛基或酮基的上部四个不对称碳为一组，余下的不对称碳为另一组，分别用其不对称碳构型相应的单糖名来表示，其前冠以该糖的构型，以每组的最下面一个不对称碳所连的羟基为参照，羟基在右边为 D 型，在左边为 L 型，下面的糖名放在前，上面的糖名放在后，最后加上所含碳数目的糖名，如七碳称为庚糖，八碳称为辛糖等；如果是酮糖还应在糖名中标明酮的位置，例如：



D-甘油-D-葡萄-庚糖
(D-glycero-D-gluco-heptose)

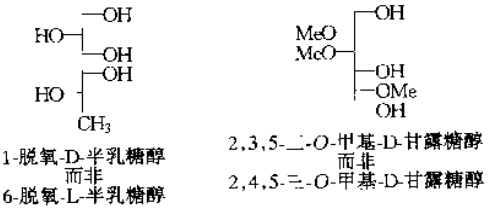
L-苏-L-阿卓-辛糖
(L-threo-L-altro-octose)

D-木-L-半乳-壬糖
(D-xylo-L-galacto-nonose)

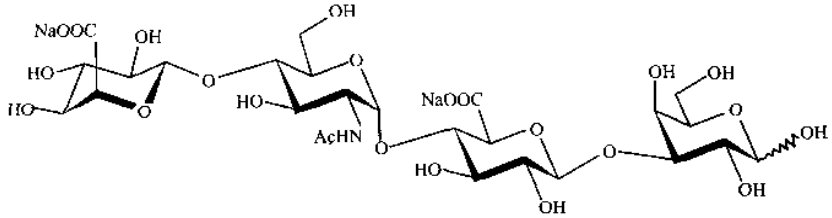


单糖的醛基或酮基被还原成羟基后，称为糖醇(-itol)。醛基被氧化成羧基后，称为糖酸(-onic acid)。伯羟基被氧化成羧基后，称为糖醛酸(-uronic acid)。当单糖含有双键时，用-en-表示。当单糖分子内两个羟基缩水成醚时，称为内醚糖，用-anhydro-表示。当糖醛酸或糖酸形成分子内酯时，用后缀-lactone 表示。糖苷或糖缀合物的字尾为-oside。当异头位取代的是氨基时，用糖基胺(-syl amine)表示，当取代的是卤素、硫酸基和磷酸基等时，也用类似方法表示。

当一个单糖可用几个方法命名时，以表示位置的数字较小的方法优先，D 比 L 优先，例子如下：



对寡糖的命名，除了俗名，由非还原端单糖开始，以箭号"→"两边的数字表示连接位点，如下面四糖的命名，不过也经常把其中的连字符"-"省略。有时，甚至把 α/β 和 D/L 也省略，并把箭号写成连字符。



(α-L-艾杜吡喃糖醛酸钠基)-(1→4)-(2-乙酰氨基-2-脱氧-α-D-葡萄吡喃糖基)-(1→4)-(β-D-葡萄吡喃糖醛酸钠基)-(1→3)-α/β-D-半乳吡喃糖或 Na_2[α-L-Ido*p*A-(1→4)-α-D-Glc*p*NAc-(1→4)-β-D-Glc*p*A-(1→3)-α/β-D-Gal]。

对于多糖，一般使用俗名，对于由同种单糖组成的同多糖，也常用某聚糖(glycan)来表示，如葡聚糖(glucan)、甘露聚糖(mannan)和果聚糖(fructan)等。对于由 2～3 种单糖组成的杂多糖，则用如 L-阿拉伯-D-半乳聚糖的形式来表示，构成多糖主链的单糖位于最后。

一些常见的缩写规则有：

1) 使用糖名的前三个字母缩写，如 Ara 代表阿拉伯糖(arabinose)，Gal 代表半乳糖(galactose)，但用 Glc 代表葡萄糖(glucose)，因为 Glu 已是谷氨酸的缩写。糖醇加后缀-ol，如 Rib-ol 代表核糖醇(ribitol)，Gro-ol 代表甘油(glycerol)，因为 Gly 已代表甘氨酸。

2) 用斜体 *p* 作为第一个后缀代表吡喃糖(pyranose)，用斜体 *f* 代表呋喃糖(furanose)。

3) 用 α 和 β 及 D 和 L 作为前缀代表异头碳的构型和糖环的绝对构型。

4) 如果某个碳上(如 2 位碳)的 OH 被 H 取代，则标明 2-脱氧-(2-deoxy-)；被氨基取代则用 2-氨基-2-脱

氧-(2-amino-2-deoxy-)来表示。

5) 用 A 作为最后一个后缀代表含有一个羧基(acid)。

6) 对一些支链单糖和烷基化或酰化产物，如 D-Glc*p*A6Et 代表 D-吡喃型葡萄糖醛酸乙酯，β-D-Gal*p*4SO_3^- 代表 β-D-吡喃型半乳糖-4-硫酸酯，D-Xyl2CMe 代表 2-C-甲基-D-木糖。

7) 一些特例如：Hep 代表 L-甘油-D-甘露庚糖、Kdo 代表 3-脱氧-D-甘露-辛酮糖酸、NeuAc 代表 *N*-乙酰神经氨酸、MutAc 代表 *N*-乙酰胞壁酸……

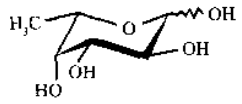
8) 两个单糖之间键合成寡糖或多糖时，用括号内的两个数字表示连接位置，中间用箭号指示方向代表异头碳所连羟基的位置，如是两个异头碳相互连接(如蔗糖)，则在两数字之间用双箭号表示。

第三节 天然存在的碳水化合物

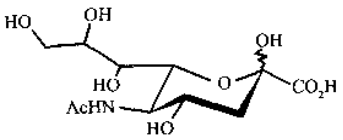
天然存在的碳水化合物包括单糖、寡糖、多糖及各种糖缀合物，它们存在于所有的生物中。现已鉴定的单糖超过 250 多种，但以游离形式存在的单糖是极少的。以游离形式存在的寡糖也很少，它们主要以与其他非糖配基(aglycone)共价结合的形式存在。许多多糖在分子中也连有非糖成分。因此，在研究碳水化合物的时候，常需要考虑非糖配基，特别是非糖配基与糖的连接方式。在这里，我们仅仅关注糖的部分。

一、天然存在的单糖

对多种动物、植物和土壤来源样品的分析结果表明除了 D-葡萄糖和 D-果糖之外，其他游离单糖的含量是微乎其微的。D-葡萄糖是最重要的单糖，是绿色植物光合作用固定 CO_2 的储能产物，也是动物重要的能量物质。在人的血液中，每升含 0.5～1 g 葡萄糖，其含量的微小变化都有可能引起细胞的损伤，特别是对于中枢神经系统。葡萄糖除了提供能量，也是动物生产其他分子的原料，如转化成 RNA 和 DNA 中的核糖和脱氧核糖，转化成膜酯中的甘油等。在动物体内，常见的单糖还有以下十种，即 D-甘露糖、D-半乳糖、*N*-乙酰氨基-D-葡萄糖、*N*-乙酰氨基-D-半乳糖、L-岩藻糖、D-木糖、D-葡萄糖醛酸、D-甘露糖醛酸、D-半乳糖醛酸、L-艾杜糖醛酸和唾液酸(包括 20 多种各种取代的神经氨酸)，它们都存在于各种糖缀合物。上述的糖醛酸主要存在于细胞间质的蛋白聚糖。哺乳动物在体内代谢中最后往往使许多酚类、醇类和羧酸化合物(包括很多药物)形成葡萄糖醛酸苷以排泄出体外。

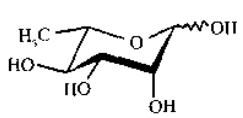


L-岩藻糖 (Fuc)

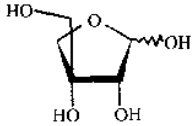


N-乙酰神经氨酸 (NeuAc)

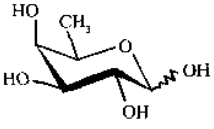
在植物界，单糖的种类更多一些。动物中不存在的常见单糖有存在于某些多糖或糖苷中的 L-鼠李糖、D-阿拉伯糖、L-阿拉伯糖、D-芹菜糖、D-奎诺糖和 D-金缕梅糖(hamamelose)等。景天庚酮糖(sedoheptulose)，以磷酸酯的形式存在于单糖的合成和代谢中，最初仅在景天科植物中发现，后来在报春科的高报春、欧洲樱草、黄花九轮草和许多植物的组织中也发现有这种糖的存在。一些树叶中含有一种或几种庚酮糖，如 D-甘油-D-甘露-辛酮糖和 D-赤藓-D-葡萄-壬酮糖曾从一种叫鳄梨(avocado)的植物中分离到。其他一些少见的单糖有存在于某些植物糖苷中的 L-半乳糖、L-来苏糖和 D-阿洛糖等。



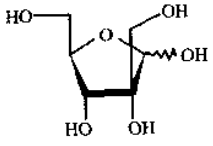
L-鼠李糖 (Rha)



D-芹菜糖 (Api)

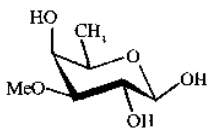


D-奎诺糖 (Qui)

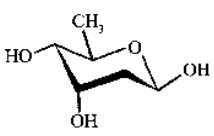


D-金缕梅糖

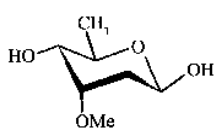
在强心苷的寡糖中，含有大量的脱氧和甲基化单糖，如洋地黄糖（β-D-digitalose）、洋地黄毒糖（β-D-digitoxose）、加拿大麻糖（β-D-cymarose）、齐墩果糖（α-L-oleandrose）和 4，6-二脱氧-β-D-赤藓-几-2-酮糖等。



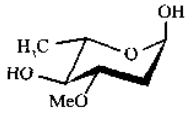
β-D-洋地黄糖



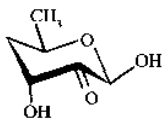
β-D-洋地黄毒糖



β-D-加拿大麻糖



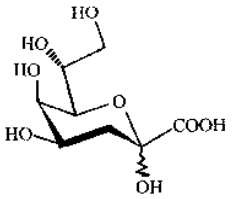
α-L-齐墩果糖



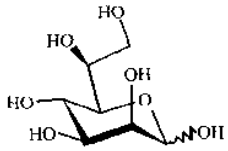
4,6-二脱氧-β-D-赤藓-几-2-酮糖

另外，糖醇较多地存在于藻类中，如半乳糖醇（galactitol）只存在于红藻中，甘露糖醇（mannitol）则存在于褐藻中。在所有的开花植物中，甘露糖醇分布也很广泛，特别是在木犀科中。还有一些糖醇如木糖醇、山梨醇（sorbitol）（即 D-葡萄糖醇）和卫矛醇（ducitol）（即 D-半乳糖醇）等也在植物中广泛存在。糖酸主要是由己糖衍生的己醛糖酸，尤其是葡萄糖酸能与钙、铁、铋等金属离子形成可溶性盐类，从而将这些必需的阳离子运入生物体内，而不能直接参与代谢的游离态葡萄糖酸再被排出体外。哺乳动物和其他一些生物中都存在有把 6-磷酸葡萄糖氧化成 6-磷酸葡萄糖酸的酶系。糖酸一般都以 γ 及 δ 两种内酯型平衡存在。

细菌脂多糖中含有两种高碳糖：L-甘油-D-甘露庚糖（Hep）和 3-脱氧-D-甘露辛酮糖酸（Kdo）。

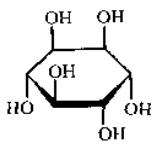


3-脱氧-D-甘露辛酮糖酸

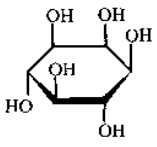


L-甘油-D-甘露庚糖

微生物的代谢产物中（主要指各种抗生素）往往含有各种结构的氨基单糖。在这里，有一点特别的说明，每个氨基糖抗生素（aminoglycoside antibiotic）分子中均含有一个单氨基取代或双氨基取代的环糖醇或中性的环糖醇：D-肌醇（D-chiro-Inositol）和 D-myo-肌醇（D-myo-Inositol）。环糖醇是指一类多元醇的碳环化合物及其衍生物，虽然归入碳水化合物，但在结构和化学性质上与一般的糖（醛和酮）有本质的不同。myo-肌醇分布很广，以游离或结合的形式存在于一切生物的组织中，D-肌醇在高等植物中分布较多，而其他环糖醇则很少存在。



D-肌醇

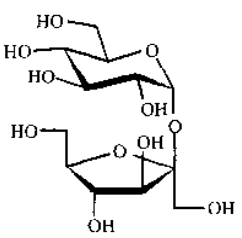


D-myo-肌醇

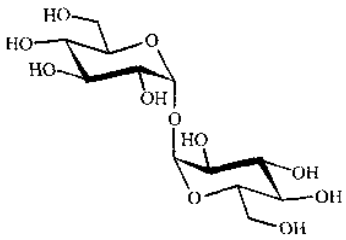
二、天然存在的寡糖

寡糖（oligosaccharide）是由若干个单糖相互之间失水而成的低聚物。自然界中以游离形式存在的寡糖不多，大量存在的只有蔗糖、α，α-海藻糖（trehalose）、乳糖和一些含有蔗糖单元的寡聚糖，如棉子糖族寡糖、蔗果糖族寡糖和剪秋罗族寡糖等。

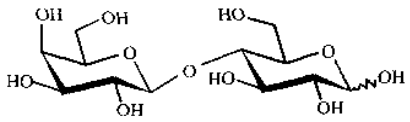
蔗糖和海藻糖是通过两个单糖的半缩醛羟基失水而形成的，不再具有醛的还原性，不表现变旋作用，不能再和醇类形成糖苷，这种连接类型的寡糖称为非还原糖。乳糖是通过一个单糖的半缩醛羟基与另一个单糖的非半缩醛羟基失水而形成的，仍具有醛的还原能力，表现变旋作用，可和醇类形成糖苷，这种连接类型的寡糖称为还原糖。



蔗糖



α,α-海藻糖



乳糖

蔗糖在甘蔗和甜菜汁中的含量高达 16%，它是几乎所有高等植物在体内运输糖的形式，也是一种储能的形式。α，α-海藻糖在覃类中的含量可达其干重的 15%，它在昆虫和酵母中有和蔗糖类似的功能，并且是昆虫的主要血型物质，在昆虫的血液中浓度达 2%，高于其中的葡萄糖的浓度。乳糖是哺乳动物乳汁中最主要的碳水化合物，在人乳中的含量约为 6%，在牛乳中为 4.5%。在乳汁中还含有一些以乳糖为还原端的寡糖，有保护新生儿对抗微生物感染的作用。

大量的结构复杂多样的寡糖则以共价键连接于各类非糖分子构成大量的糖苷化合物和糖缀合物。

几乎所有的细胞外蛋白质是糖蛋白，其中糖的含量差别很大，如在卵清蛋白中只含有一条寡糖链，约占总相对分子质量的 3%，而在绵羊颌下腺粘蛋白中约含有 800 条二糖链，约占总相对分子质量的 50%。糖蛋白按寡糖与蛋白的连接方式可分成两类，*N*-连接糖蛋白的糖链连于蛋白的天冬酰氨残基(Asn)的侧链酰氨基；*O*-连接糖蛋白的糖链连于蛋白的丝氨酸(Ser)或苏氨酸(Thr)残基的侧链羟基。后来也发现了一些具有其他连接方式的糖蛋白。*N*-连接糖蛋白的糖链通常以一个核心五糖与蛋白相连，即 Manα1→6(Manα1→3) Manβ1→4GlcNAcβ1→4GlcNAcβ1→Asn。*O*-连接糖蛋白有较多类型的核心寡糖结构。虽然糖蛋白的核心结构有限，但外周取代的寡糖变化很多，构成极大的多样性。

动物体内的糖脂主要是鞘糖脂(图 12-7)，由糖链和神经酰氨组成，神经酰氨由一条长链的鞘氨醇和一条脂肪酸链组成。有的糖链很短，如脑苷脂仅有一个半乳糖或葡萄糖；有的糖链很长，如巨糖脂的糖链是 20～30聚的寡糖。大部分的糖链含四个左右的糖基，主要是葡萄糖、半乳糖和 *N*-乙酰氨基半乳糖，并在外端连有一个或多个唾液酸。

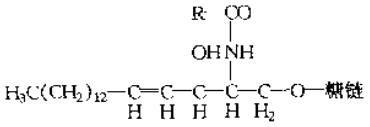


图 12-7 鞘糖脂的结构通式

糖脂定位于细胞膜和内膜，和定位于膜的糖蛋白一样，其糖链伸展于膜的外侧，为细胞筑成一层厚厚的糖衣。这条糖衣的一些处于外周非还原端的寡糖往往是识别位点，如抗原特异性的血型决定簇寡糖(图 12-8)。

植物中大多数的二次代谢产物都有糖苷化的存在形式，一个主要的原因是增加非糖分子的水溶性，从而有利于在体内的输运。其中氰苷、强心苷、皂苷和鞣质在天然产物中经常独立成章；其他的植物糖苷则在讲述各非糖部分时或多或少的提及，如黄酮苷、花青素苷、蒽醌苷、木脂素苷等。在此，仅概括植物糖苷的一些重要特点：

1) 植物糖苷中最常见的组成单糖是葡萄糖、鼠李糖、阿拉伯糖、木糖和半乳糖。

2) 植物糖苷中的糖苷键均为 1,2-反式糖苷键，强心苷中 2-脱氧糖糖苷键例外。

3) 植物糖苷中皂苷的糖链最为复杂和多样，一个分子中可以带有三条糖链，糖链可以是四糖、五糖或更长的寡糖；其次是黄酮苷(包括花青素苷)，其中三糖和四糖也较常出现。

4) 其他植物糖苷中的糖链较为简单，如其他萜类(包括单萜、倍半萜、二萜、胡萝卜素和柠檬酸等)、芥子素(硫苷)和氰苷等，有许多只含一个单糖，并且往往是葡萄糖。

5) 对于芳香类化合物，如黄酮、香豆素和蒽醌等，既存在糖与酚羟基相连的 *O*-糖苷，又存在糖与苯环碳

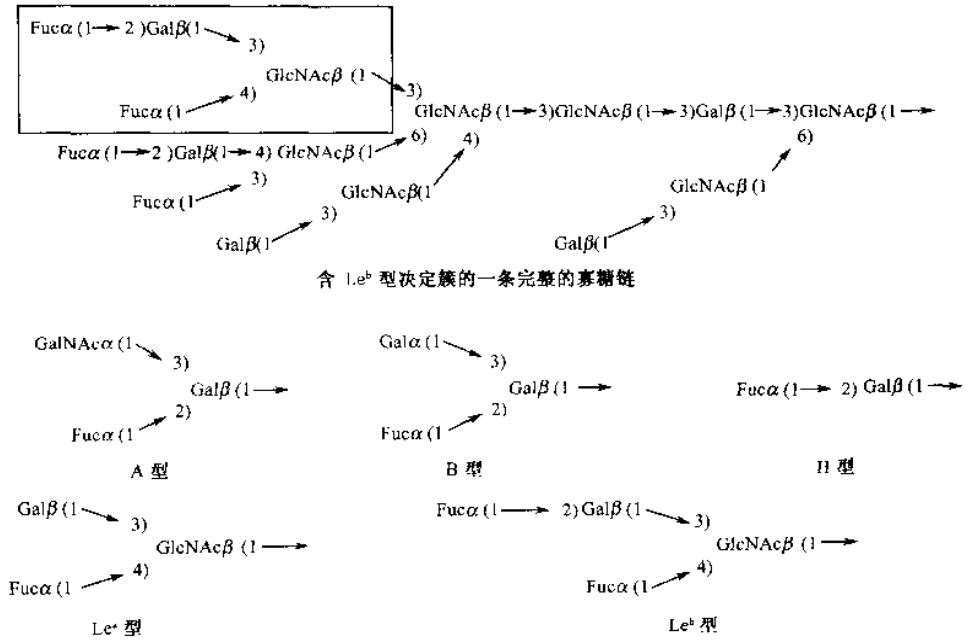


图 12-8　一些血型决定簇寡糖

相连的 *C*-糖苷。

6）植物糖苷的糖链常被一些酰基所修饰。

7）植物糖苷是种属特异性的，因而可作为植物分类的参考。

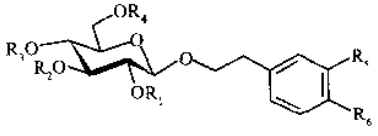
8）植物糖苷的糖链是苷元特异性的，反映了植物体内糖基转移酶对苷元的选择性。

另外，在此以苯乙素苷（phenylethanoid glycoside）为例说明植物糖苷的另外两个特点：

1）一个植物糖苷可能存在于许多植物。

2）一种植物往往含有一系列的同种类型的糖苷，在结构上仅有微小差别。

苯乙素苷的苷元为通常是二羟基取代的苯乙醇，糖上还带有苯丙酰基类化合物取代基，因此也称作苯丙素苷（phenylpropanoid glycoside）[19,20]。第一个苯乙素苷是 1968 年从玄参科毛蕊属植物（*Verbascum sinuatum* L.）中分离的毛蕊花糖苷（verbascoside）。至今，毛蕊花糖苷已从 14 个属 60 多种植物中分离得到。在玄参科（Scrophulariaceae）地黄属植物 *Rehmannia glutinosa* var. *purpurea* 的根中已分离得到了 17 个苯乙素苷化合物（图 12-9）。



	R_1	R_2	R_3	R_4	R_5	R_6
1	H	H	H	H	OH	OH
2/3	H/Ac	Rha	Cf	H	OH	OH
4/5	H	Rha	H	H/Cf	OH	OH
6	H	Rha	Cf	H	OH	OH
7	H	Rha	Cf	H	OH	OH
8/9	H	Rha	Fr/c-Fr	H	OH	OMe
10	H	H	H	Xyl	H	H
11	Xyl	H	H	H	H	H
12/13	H	Rha	Fr/c-Fr	Gal	OH	OH
14/15	H	Rha	Fr/c-Fr	Gal	OH	OMe
16/17	H	Rha	Cm/Cr	Gal	OH	OH

图 12-9　地黄属植物 *Rehmannia glutinosa* var. *purpurea* 根中的苯乙素苷

Rha = α-L-鼠李吡喃糖基；Xyl = β-D-木吡喃糖基；Gal = β-D-半乳吡喃糖基；Cf = 反式-咖啡酰基；Fr = 反式-阿魏酰基；c-Fr = 顺式-阿魏酰基；Cm = 反式-香豆酰基

三、天然存在的多糖

从量上讲，自然界的碳水化合物主要以多糖的形成存在。细菌、真菌和植物的细胞壁(可占整个细胞干重的30%)主要由多糖组成，动物细胞间质也含有大量的多糖。这些多糖的一个首要的功能是维持细胞的稳定结构。植物淀粉、果聚糖和动物糖原等则是能量储存物质。

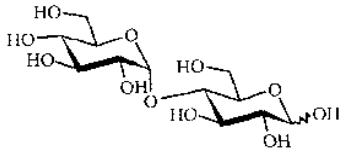
多糖是高分子化合物，对其结构的研究做不到像对小分子那样精确，而只能描述一些结构上的特点，如分子大小(平均相对分子质量或相对分子质量分布)、单糖组成和单糖连接方式等。由一种单糖组成的多糖叫同多糖；由多种单糖组成的多糖叫杂多糖，不过大多主要只含2～3种单糖；另有一些多糖则共价地结合了脂、肽或蛋白等。另外，多糖还可能带有其他的取代基团，如酰基、甲基、丙酮酸、硫酸基、磷酸基等。总之，多糖的结构是非常复杂多样的，对任何一个多糖的精细结构的了解似乎没有尽头。

一般认为一个多糖总具有一个重复结构单元或几个主要的重复结构单元。

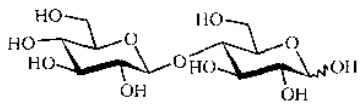
直链淀粉是由250～300个D-葡萄糖通过 α-1→4糖苷键连接而成的链状分子，因此其最小重复单元是麦芽二糖。支链淀粉约含6000个D-葡萄糖残基，在 α-1→4连接的长链上，通过 α-1→6糖苷键形成侧链，侧链约含25个葡萄糖残基，仍以 α-1→4连接。动物糖原主要存在于肌肉和肝脏，相对分子质量可达100 000 000(约含600 000个葡萄糖)并且比支链淀粉具有更高的支化度，有利于迅速水解提供葡萄糖。

纤维素是植物细胞壁中最主要的物质，由8000个左右的D-葡萄糖通过 β-1→4糖苷键连接而成的链状分子，其最小重复单元是纤维二糖。

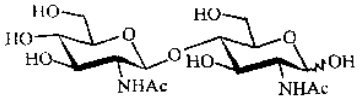
几丁质是昆虫和甲壳动物甲壳中的主要物质，故又称为甲壳素，也是真菌细胞壁的常见成分。几丁质由N-乙酰氨基-D-葡萄糖通过 β-1→4糖苷键连接而成，其最小重复单元是几丁二糖。



麦芽二糖



纤维二糖



几丁二糖

琼脂是藻类中的一种半乳聚糖。红藻中的半乳聚糖有两个基本的重复二糖单位，即-D-Gal$p\beta$(1→3)-D-Galα-(1→3)-和-D-Gal$p\beta$(1→3)-L-Galα-(1→3)-，其中的半乳糖残基可能被甲基化、硫酸化、3,6-缩水和4,6-丙酮酸化等。

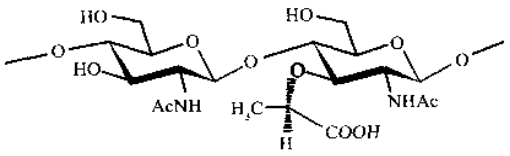
果胶(pectin)是高等植物初级细胞壁和相邻细胞间紧密联合的一类多糖，相对分子质量在10 000～400 000之间，大多的果胶具有 α-1→4连接的D-半乳糖醛酸的主链，羧基可有不同的甲酯化度，并可能含有其他多种单糖残基，如L-鼠李糖、D-木糖和L-阿拉伯糖等，其精细结构就十分复杂。

表12-3 糖胺聚糖的主要结构特点

名称	相对分子质量 ($\times10^3$)	重复二糖单位	硫酸基取代度/每二糖单位	是否连接蛋白	其他单糖残基
透明质酸	～8000	-GlcAβ(1→3)-GlcNAcβ(1→4)-	0	否	
硫酸软骨素	5～50	-GlcAβ(1→3)-GalNAcβ(1→4)-	0.2～2.3	是	Gal,Xyl
硫酸皮肤素	15～40	-GlcAβ(1→3)-GalNAcβ(1→4)-和-IdoAβ(1→3)-GalNAcβ(1→4)-	1.0～2.0	是	Gal,Xyl
硫酸角质素	4～19	-Galβ(1→4)-GlcNAcβ(1→4)-	0.9～1.8	是	GalNAc,Man
硫酸肝素	5～12	-GlcAβ(1→4)-GlcNAcα(1→4)-和-IdoAβ(1→4)-GlcNAcα(1→4)-	0.2～2.0	是	Gal,Xyl
肝素	6～25	-GlcAβ(1→4)-GlcNAcα(1→4)-和-IdoAβ(1→4)-GlcNAcα(1→4)-	2.0～3.0	是	Gal,Xyl

动物细胞间质中的多糖主要是糖胺聚糖(glycosaminoglycan),大多数通过一个核心三糖[→3)Gal$p\beta$(1→3)-Gal$p\beta$(1→4)-Xyl$p\beta$(1→Ser/Thr]与蛋白质共价相连,称作蛋白聚糖(proteoglycan)。糖胺聚糖的主要结构特点列于表 12-3 中。

细菌细胞壁中的胞壁质(murein)约占革兰氏阳性菌总质量的 50%,革兰氏阴性菌的 10%。其中多糖的重要重复二糖单位是[GlcNAcβ(1→4)-MurNAcβ(1→4],通过其中乳酸羧基形成肽链相互交联形成网状结构,其中的肽链含有多种非天然氨基酸,以对抗蛋白酶的水解。



胞壁质的重复二糖单位

脂多糖(lipopolysaccharide)是细菌细胞壁中另一类重要的物质,具有强烈的抗原性。其结构非常复杂(图 12-10),包括 LipidA、内核心、外核心结构和 *O*-抗原多糖。

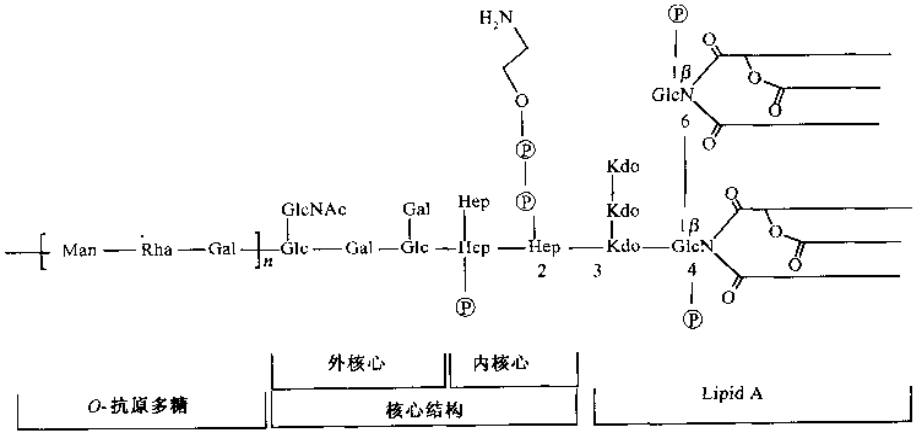


图 12-10　细菌细胞壁脂多糖的结构

也有一些多糖完全缺乏一定的重复结构单元。如属于半纤维素的 D-葡萄-D-甘露聚糖,其中葡萄糖与甘露糖的比例为 1:3,以 β(1→4)糖苷键连接,但两种单糖残基的分布没有规律,另外还含有少量半乳糖形成侧链。

第四节　碳水化合物的结构研究

由于碳水化合物结构的多样性、立体化学的复杂性、天然存在的微观不均一性,以及难于结晶等特点,其分离纯化和结构鉴定是一项艰巨的工作。在开始碳水化合物研究的前半个多世纪里,主要工作是单糖的分离和结构鉴定。主要的手段是通过化学转化,如制成易于结晶的糖脎,并通过对比熔点和旋光度来相互关联。Hudson 的旋光经验规则是重要的推导单糖结构的方法。也发展了许多显色反应来快速地区分醛糖、酮糖、氨基糖和糖醛酸等。对多糖主要通过不同制备来源,不同制备方法,如对水或其他溶剂不同的溶解性等来加以区分,因此,就有了树胶、果胶、琼脂等名称。对多糖的结构分析也主要依靠化学方法,如通过完全水解后制备单糖的各种衍生物来鉴定多糖的组成、通过甲基化分析和 Smith 选择性断裂邻二羟基等方法来推导单糖残基的连接方式、通过部分酸水解以得到小片断等。气相色谱-质谱在鉴定单糖衍生物中发挥了重要作用。红外和激光拉曼光谱等也能给出一些有用的结构信息,如异头位构型。

现在的结构分析手段相比以前已有了天翻地覆的变化,对碳水化合物的分离分析已越来越方便。其中

最重要的进步是各种高效液相色谱、核磁共振、质谱和各种生物学方法。用于碳水化合物分离分析的生物学手段在近 20 年已有了很大的发展，并将在今后发挥越来越重要的作用，如凝集素亲和层析、凝集素和抗体检测一定结构的寡糖、糖苷外切酶和内切酶鉴定各种糖苷键等。需要指出的是：

1）碳水化合物特别是糖缀合物的分离鉴定仍是极具挑战性的工作，目前只有为数不多的先进实验室能进行。

2）各种糖苷和糖缀合物的分离纯化必须考虑非糖组分的性质，在结构鉴定时可能必须选择条件断开糖和非糖组分，以分别进行结构研究。

3）古老的化学方法、如甲基化分析、完全和部分酸水解等在现在仍是鉴定多糖和寡糖结构的不可或缺的方法。

4）未来的进步在于生物学手段和谱学手段的联用，如近期出现的多种糖苷水解酶和质谱联用解析 *N*-连接寡糖和肝素类寡糖的结构。

一、碳水化合物的高效液相色谱

用于碳水化合物分离的高效液相色谱(HPLC)一般使用反相柱，如 C_{18}柱和氨基柱等，使用水或水与乙腈和甲醇的混合溶剂作洗脱剂，样品按极性大小分离，如三糖比二糖先流出。凝胶渗透色谱(GPC)则按分子的大小来分离样品，分子量大的先流出，可用于多糖和糖缀合物的脱盐、纯化和相对分子质量的测定。

由于碳水化合物大都没有强的紫外吸收，过去只能使用示差检测，但示差检测的灵敏度低，只有紫外检测的 1/1000 左右，并且不稳定，或者对样品进行紫外或荧光标记，如把单糖或寡糖制成丹磺酰腙衍生物或 *N*-(4-硝基苯基)-糖氨衍生物，纳克的分子就能用紫外检测；用 9-芴甲氧羰基(Fmoc)标记氨基糖，荧光检测的灵敏度可达皮摩水平，但化学标记需要额外的工作量。20 世纪 80 年代以后，出现了商品化的蒸发光散射检测器(ELSD)基本解决了碳水化合物的检测问题。ELSD 检测包括三个过程：① 雾化。色谱柱流出物通过针头式的细导管进入雾化器，在导管的尾部与气体混合喷成均匀的雾滴。② 蒸发。雾滴经过加热的漂移管，流动相被蒸发，溶质颗粒形成极细的薄雾。③ 溶质颗粒在检测池中发生光散射作用，经光电倍增管放大成信号输出。由光散射原理导出：峰面积 $= a \times$(样品质量)^b，其中 a，b 为与样品性质和检测条件有关的系数。

20 世纪 80 年代以后，逐步建立的使用阴离子交换层析柱联用脉冲安培检测器(HPAEC-PAD)来分离分析碳水化合物的方法(商品化的 Dionex 系统)也越来越受重用[21]。该方法是利用糖的多羟基性，即糖具有弱酸性，在强碱溶液中(pH = 12～14)可部分或全部离子化。一般使用 NaOH 和 NaOAc 的混合水溶液进行洗脱，离子化程度越小在柱中的保留时间越短。PAD 可检测小于 0.1 ng 的样品。

二、碳水化合物的核磁共振分析

较小的碳水化合物(相对分子质量小于 2000)，包括大多数的植物糖苷的结构用现在的核磁共振(NMR)技术可完全确定其结构，虽然在发表论文时一般还需提供其他化学或谱学方法的证据。NMR 还能提供分子在溶液中的构象和动力学方面的大量信息，这是其他方法所不能的。NMR 的缺点是需要一定量的较纯的样品，在傅里叶变换的 500 兆核磁上做二维氢谱需要至少 250 nmol 的样品，做碳谱则需要其 10 倍量的样品。要获得这样的量对一些糖缀合物来说还是非常不容易的。表 12-4 给出了 NMR 能提供的参数及相关的碳水化合物的结构信息。

表 12-4 用于碳水化合物结构解析的 NMR 参数

NMR 参数	结构信息
化学位移、NOE、自旋偶合($^{13}C—^{1}H$)	连接位点
化学位移、自旋偶合($^{1}H—^{1}H$、$^{13}C—^{1}H$)	异头碳构型
自旋偶合($^{1}H—^{1}H$、$^{13}C—^{1}H$、$^{13}C—^{13}C$)	单糖残基构象
核自旋弛豫(T_1、T_2)、NOE、自旋偶合($^{13}C—^{1}H$、$^{13}C—^{13}C$)	糖苷键构象(ϕ、ψ)
自旋偶合($^{1}H—^{1}H$、$^{13}C—^{1}H$)	羟甲基构象(ω)
核自旋弛豫(T_1、T_2)、NOE	糖链运动和动力学性质

碳水化合物的羟基因其宽的信号和化学位移的可变性，一般不适用于结构研究，常常通过重水交换把它们除去。糖环碳上大部分质子的化学位移由于受羟基的屏蔽作用而位于 3～4 ppm 的狭小区间，对于较大的

寡糖，信号重叠则非常严重；其中的同核$^1H—^1H$偶合也只有在高场（通常大于400兆）NMR谱仪上得以成一级相关。不过，一些特定的糖环质子和取代官能团质子的信号可以比较方便首先加以辨认。特别是异头碳质子H-1的化学位移总是处于较低场（4.5～5.5 ppm），并且只受H-2的偶合而成二重峰。其他较易辨认的信号包括：①甘露糖的H-2和H-3；②唾液酸的H-3；③岩藻糖的H-5和CH_3；④半乳糖的H-3和H-4；⑤*N*-乙酰氨基糖的乙酰基CH_3等。

相邻质子的偶合常数是其二面角的函数，这一点对归属糖环质子和判别糖环构型非常重要。偶合常数J与其二面角ϕ的相互关系为

$$J = J_0\cos^2\phi - 0.28$$

当ϕ在0°～90°之间，J_0值为8.5Hz，当ϕ在90°～180°之间，J_0值为9.5Hz；换句话说，在吡喃糖环系统，当$\phi = 60°$，也就是相邻质子处于垂直键-平伏键或平伏键-平伏键方向时，偶合常数在1～4Hz之间，当$\phi = 180°$，也就是相邻质子处于垂直键-垂直键方向时，偶合常数在6～10Hz之间。解析图谱时一般先找出上述的一些容易辨认的质子信号，如异头位质子，再通过相同偶合常数的信号来确定其邻位质子；对于重叠严重的谱图，则通过去偶和二维谱来归属所有的信号。

表12-5列出一些吡喃醛糖的^{1}H-NMR化学位移和偶合常数，在对碳水化合物进行结构研究时具有一定的参考价值[22,23]。

表12-5　一些常见吡喃醛糖的^{1}H-NMR化学位移（δ值，ppm）和偶合常数（括号内为J值，Hz）

单糖	H-1	H-2	H-3	H-4	H-5	H-5′	H-6	H-6′
α-核糖	4.75	3.71 (3.0)	3.83 (3.0)	3.77	3.82 (5.3)	3.50 (2.6,12.4)		
β-核糖	4.81 (6.5)	3.41 (3.3)	3.98 (3.2)	3.77	3.72 (4.4)	3.57 (8.8,11.4)		
α-阿拉伯糖	4.40 (7.8)	3.40 (9.8)	3.55 (3.6)	3.83	3.78 (1.8)	3.57 (1.3,13.0)		
β-阿拉伯糖	5.12 (3.6)	3.70 (9.3)	3.77 (9.8)	3.89	3.54 (2.5)	3.91 (1.7,13.5)		
α-木糖	5.09 (3.6)	3.42 (9.0)	3.48 (9.0)	3.52	3.58 (7.5)	3.57 (7.5)		
β-木糖	4.47 (7.5)	3.14 (9.2)	3.33 (9.0)	3.51	3.82 (5.6)	3.22 (10.5,11.4)		
α-来苏糖	4.89 (4.9)	3.69 (3.6)	3.78 (7.8)	3.73	3.71 (3.8)	3.58 (7.2,12.1)		
β-来苏糖	4.74 (1.1)	3.81 (2.7)	3.53 (8.5)	3.73	3.84 (5.1)	3.15 (9.1,11.7)		
α-葡萄糖	5.09 (3.6)	3.41 (9.5)	3.61 (9.5)	3.29 (9.5)	3.72	—	3.72 (2.8)	3.63 (5.7,12.8)
β-葡萄糖	4.51 (7.8)	3.13 (9.5)	3.37 (9.5)	3.30 (9.5)	3.35	—	3.75 (2.8)	3.60 (5.7,12.8)
α-甘露糖	5.05 (1.8)	3.79 (3.8)	3.72 (10.0)	3.52 (9.8)	3.70	—	3.74 (2.8)	3.63 (6.8,12.2)
β-甘露糖	4.77 (1.5)	3.85 (3.8)	3.53 (10.0)	3.44 (9.8)	3.25	—	3.74 (2.8)	3.60 (6.8,12.2)
α-半乳糖	5.16 (3.8)	3.72 (10.0)	3.77 (3.8)	3.90 (1.0)	4.00	—	3.70 (6.4)	3.62 (6.4)
α-半乳糖	4.48 (8.0)	3.41 (10.0)	3.56 (3.8)	3.84 (1.0)	3.61		3.70 (3.8)	3.62 (7.8)

（测试条件为：溶剂D_2O，400MHz，23℃）

复杂寡糖和多糖的氢谱信号难以提供较多的有用的结构信息，面质子去偶的碳谱信号的化学位移范围宽达300 ppm，从高场到低场分别是脂肪烃碳、糖环碳（60～90 ppm）、糖基异头碳（～100 ppm）、芳烃碳和双键碳、羰基碳等，具有较好的分辨，并且有许多单糖、寡糖和多糖的碳谱已列成表，可以用于方便的对比。与质子共振情况相对应，碳原子的化学位移也受相关原子的电子密度影响，异头碳的电子密度相对较低，其信

号就要比其余碳原子的信号更低场。碳原子的取代基发生变化，其碳谱也非常敏感地发生变化，如碳原子所连的羟基被氢取代(脱氧)，则该碳的化学位移大大移向高场。取代基不同的空间排列及对邻位碳的取代都对化学位移产生很大的影响，如平伏键的取代变为垂直键的取代，该碳的化学位移将移向高场，这种影响对异头碳特别明显。对邻位碳的取代基从平伏键变为垂直键时其化学位移大多移向高场；相反，如果连到碳上的氢原子对羟基出现1,3-二轴关系时，其化学位移也移向高场。从这些经验规律可推导出化学位移和构象稳定性的关系，即^{13}C-NMR化学位移的总数越小，构象的稳定性越大。

表12-6及表12-7收集了一些吡喃醛糖及其全乙酰化化合物的^{13}C-NMR化学位移(溶剂：D_2O)，供读者使用时参考[24,25]。

表12-6 一些常见吡喃醛糖的^{13}C-NMR化学位移

单糖	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6
α-核糖	94.3	70.8	70.1	68.1	63.8	—
β-核糖	94.7	71.9	69.7	68.2	63.8	—
α-阿拉伯糖	97.6	72.9	73.5	69.6	67.2	—
β-阿拉伯糖	93.4	69.5	69.5	69.5	63.4	—
α-木糖	93.1	72.5	73.9	70.4	61.9	—
β-木糖	97.5	75.1	76.8	70.2	66.1	—
α-来苏糖	94.9	71.0	71.4	68.4	63.9	—
β-来苏糖	95.0	70.9	63.5	67.4	65.0	—
α-阿洛糖	93.7	67.9	72.0	66.9	67.7	61.6
β-阿洛糖	94.3	72.2	72.0	67.7	74.4	62.1
α-阿卓糖	94.7	71.2	71.1	66.0	72.0	61.6
β-阿卓糖	92.6	71.6	71.3	65.2	75.0	62.5
α-葡萄糖	92.9	72.5	73.8	70.6	72.3	61.6
β-葡萄糖	96.7	75.1	76.7	70.6	76.8	61.7
α-甘露糖	95.0	71.7	71.3	68.0	73.4	62.1
β-甘露糖	94.6	72.3	74.1	67.8	77.2	62.1
α-古洛糖	93.6	65.5	71.6	70.2	67.2	61.7
β-古洛糖	94.6	69.9	72.0	70.2	74.6	61.8
α-艾杜糖	93.2	73.6[1)]	72.7[1)]	70.6[1)]	73.6[1)]	59.4
β-艾杜糖	93.9	71.1[1)]	68.8[1)]	70.6[1)]	75.6[1)]	62.1
α-半乳糖	93.2	69.4	70.2	70.3	71.4	62.2
β-半乳糖	97.3	72.9	73.8	69.7	76.0	62.0
α-塔洛糖	95.5	71.7	66.0	70.6	72.0	62.4
β-塔洛糖	95.0	72.5[1)]	69.6[1)]	69.4	76.5	62.2

1)归属时可能有变化。

表12-7 一些全乙酰化的吡喃醛糖的^{13}C-NMR化学位移

全乙酰化单糖	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6
α-核糖	88.7	67.1	65.6	66.5	59.3	
β-核糖	90.7	67.1	66.0	66.0	62.5	
α-阿拉伯糖	92.2	68.2	69.9	67.3	63.8	
β-阿拉伯糖	90.4	67.3	68.7	66.9	62.9	
α-木糖	88.9	69.2	69.2	68.8	60.5	
β-木糖	91.7	69.3	70.8	68.1	62.5	
α-来苏糖	90.7	68.2	68.2	66.6	61.9	
β-来苏糖	90.1	68.2	68.2	65.8	71.2	
α-阿卓糖	90.2	68.2	66.4	64.4	66.4	62.1
α-葡萄糖	89.2	69.4	70.0	68.1	70.0	61.1
β-葡萄糖	91.8	70.5	72.8	68.1	72.8	61.7
α-甘露糖	90.4	68.6	68.2	65.4	70.5	62.0
β-古洛糖	89.7	67.3[1)]	67.1[1)]	67.1[1)]	71.1	61.3
α-艾杜糖	90.4	65.9	66.2	65.9	66.2	61.8
α-半乳糖	89.5	67.2	67.2	66.2	68.5	61.0
β-半乳糖	91.8	67.8	70.6	66.8	71.5	61.0
α-塔洛糖	91.4	65.2[1)]	66.3[1)]	65.3[1)]	68.8[1)]	61.5

1)归属时可能有变化。

除了单糖及其衍生物，其他寡糖或糖苷的结构解析往往依赖各种二维核磁共振技术。表 12-8 列出了用于碳水化合物结构解析的 2D-NMR 技术和谱图二维的参数。信号的大小一般以等高线表示。

表 12-8　用于碳水化合物结构解析的 2D-NMR

2D-NMR 技术	F_1 轴参数	F_2 轴参数
同核 2DJ 谱	J_{HH}	$\delta(^1H)$
COSY、DQF-COSY、TQF-COSY、HOHAHA(TOCSY)、NOESY	$\delta(^1H)$	$\delta(^1H)$
HETCOR、HMQC、HMBC	$\delta(^{13}C)$	$\delta(^1H)$

HMQC(heteronuclea multi quantum coherence)谱给出直接相连的^{13}C—^1H间的相关关系($^1J_{CH}$)，可找出与异头碳质子相连的碳的信号及糖基上每个质子所连接的碳的信号。DQF-COSY(double quantum filter correlated spectroscopy)和 TOCSY(total correlated spectroscopy)给出^1H—^1H的邻位相关($^2J_{HH}$)和远程相关($^3J_{1H}$、$^4J_{HH}$…)，通过邻碳质子偶合和异头碳与同一糖基的所有质子的相关关系，可从已知的异头碳质子开始寻找邻位的质子和整个糖基所连接的所有质子。NOESY(nuclear overhauser effect spectroscopy)揭示了每个糖基内和糖基间的质子空间相关关系的奥氏核效应，提供了每个糖基质子之间的立体关系和糖基间的连接关系和部位。糖苷键之间如何连接的进一步证据可从 HMBC(heteronuclear multi-bond connection)谱来获得，它提供了^{13}C—^1H之间的远程相关关系($^2J_{CH}$、$^3J_{CH}$)，通过异头碳和糖基配体中质子或异头碳质子和糖基配体中的碳之间的远程 C—H 相关，可找出该异头碳所连接的糖基及其部位。

三、碳水化合物的质谱(MS)分析

质谱技术在近年的发展速度甚至超过了核磁共振，正成为越来越重要的结构分析手段。解决寡糖和糖缀合物快速、微量的结构分析问题也正寄希望于由其他技术辅助的新的质谱技术[26]。

质谱测定的是分子离子或碎片离子的质量(严格地说是质荷比 m/z)，因而可以直接给出精确的相对分子质量及寡糖连接的一些信息，如断裂一个末端的葡萄糖给出 162u 和 M－162u 的碎片峰；断裂一个 *N*-乙酰氨基葡萄糖则给出 203u 和 M－203u 的碎片峰；断裂一个岩藻糖则给出 146u 和 M－146u 的碎片峰，等等。质谱不能直接给出立体化学的信息，如不能判别 162u 的碎片峰是属于葡萄糖、甘露糖，还是其他六碳糖，也不能获知此六碳糖是吡喃构型还是呋喃构型，是 α 连接还是 β 连接。因此，必须联用其他方法来确定其中的立体化学，如使用一系列糖苷水解酶。不过，串联质谱(tandem mass spectrometry)的使用和对糖的断裂规律的更深入了解有可能通过质谱得到糖的立体化学的信息，这一方面的研究还刚刚开始。

经典的电子轰击(EI)和化学源(CI)方法只适用于易气化的分子的离子化，从而只适用于测定单糖衍生物(如甲基化、硅醚化和乙酰化等)的结构。场致电离(FI)和场解吸电离(FD)等质谱方法对寡糖和糖缀合物的结构测定也没有太大的帮助。质谱用于寡糖结构研究的根本性进步来自于快原子轰击电离(FAB)[27]、电喷雾电离(ESI)[28]和基质辅助激光解吸电离(MALDI)[29]等软电离质谱技术的发展。

FAB 所需的样品量与其他离子化方法相比是较大的，需要 0.1～1 nmol；同时，由于基质干扰较大，要得到一张稳定重复的质谱图较为困难。因而，ESI 和 MALDI 技术已基本替代了 FAB 质谱。

ESI 作为一种新的电离技术是对大分子化合物相对分子质量测定的重大突破。ESI 测定的相对分子质量可达 10 万，准确度达 0.01%～0.05%。除了给出精确的相对分子质量，还能提供糖基断裂的碎片信息，在天然寡糖和糖缀合物的结构研究中正在发挥越来越大的作用。ESI 是靠强的电场使分子电离。样品溶液以很低的流速从毛细管流出来，用一个高电压加在毛细管柱头上，使柱头液体雾化成很细的带电液滴，这种带电的液滴在逆向干燥气流中因挥发而使液滴表面的电荷密度增大，到达一定程度时液滴会产生爆裂，形成更小的子液滴，这些子液滴又蒸发成更小液滴，小液滴又再一次爆裂，如此过程一直进行下去直到液滴变得非常小，由于液滴的曲率半径非常小而表面电荷密度很大，在液滴表面形成非常强的电场，这电场足以从液滴中解析出离子并进入到周围的气体中，这种分子离子往往带多个电荷，因此在 ESI 谱图上出现的往往是一组带不同电荷的分子离子峰，根据仪器记录下来的每个峰的质荷比及电荷数即可算出其相对分子质量值。由于从一组峰上可算出好多个相对分子质量值，它们之间会略有差别，通过计算机特定的程序处理，可找出最接近的相对分子质量值。测定寡糖和糖缀合物时，除了得到$[M+H]^+$基峰，也常常得到$[M+Na]^+$、$[M+K]^+$和$[M+2Na]^+$等一系列加成离子峰；相对分子质量小于 1000 时出现$[2M+Na]^+$和$[2M+K]^+$峰，而相对分子质量大于 1000 时则出现双电荷离子，利用这些可能出现的谱峰有助于判断所测试的化合物

的结构。

MALDI 技术与 ESI 几乎同时问世于 20 世纪 80 年代末。由于技术上的要求，往往用飞行时间检测器(TOF)来检测产生的离子，而称作 MALDI-TOF 质谱。MALDI-TOF 质谱对蛋白质测定的相对分子质量已达 35 万，准确度达 0.05%～0.1%。其中的样品不受添加剂、缓冲液和盐类的影响。其灵敏度是各类电离方式中最高的，只需飞摩至皮摩的样品量。MALDI 的基本原理是利用激光脉冲辐射分散在基质中的样品使其解吸形成离子。其中选择合适的基质是十分重要的，目前一般使用的有苯甲酸衍生物、芥子酸和肉桂酸衍生物等。对于蛋白质和糖蛋白，MALDI 除了给出强的$[M+H]^+$峰，也常给出较弱的双电荷或多电荷的离子峰，而对于中性寡糖，往往仅给出单一的$[M+Na]^+$峰。

四、多糖结构分析实例

由于多糖的结构极其复杂并且微观不均一，多糖结构分析的目的是得出尽可能多而精确的结构信息。传统的方法仍然是主要的分析手段。下面以宁夏枸杞子(*Lycium barbarum* L.)中糖蛋白 LbGp4 的分离纯化及其糖链的结构分析为例[30,31]。

1. 分离、纯化

生药枸杞子 500 g 粉碎后，在室温下用 3 倍体积水浸泡 24 h，双层纱布过滤，残渣再用 1.5 倍体积水浸泡6 h，合并滤液。在<40℃下旋转蒸发浓缩。离心，上清液用 4 倍体积无水乙醇沉淀。沉淀用少量水溶解后，用 1/5 体积 Savage 试剂($CHCl_3$∶*n*-BuOH 4∶1)去除游离蛋白 7 次。对水透析 2 天，冷冻干燥，得粗多糖缀合物 LBP 4.0 g。

上述 LBP 进行 DEAE-纤维素柱层析，依次用水，0.05 mol/L、0.1 mol/L、0.25 mol/L 和 0.5 mol/L $NaHCO_3$溶液洗脱，用硫酸-苯酚法显色，检测每管在 280 nm 和 495 nm 处吸光值。可分得五个组分 LbGp1-5。其中 LbGp4 再经 2 次 Sephadex G-50 柱层析纯化(0.1 mol/L NaCl 溶液洗脱)，得 1.6 g 白色疏松固体。

2. 纯度鉴定

(1) HPLC 法

凝胶柱 TSK-2000SW，NaH_2PO_4-Na_2HPO_4 缓冲液(50 mmol/L，pH=7.0)洗脱，流速 1.0 mL/min，紫外 254 nm波长检测。LbGp4 呈单一对称峰流出。

(2)毛细管电泳法

以 H_3BO_3-KOH 缓冲液(pH=10)为电泳液，紫外 254 nm 波长检测。LbGp4 呈单一对称峰流出。

3. 一般性质分析和糖链的释放

LbGp4 的红外光谱显示 1645 cm^{-1}(中)的酰胺键和 1098 cm^{-1}(强)的糖环特征吸收。元素分析显示 N 的含量为 1.72%。

LbGp4 于 0.1 mol/L NaOH-1.0 mol/L $NaBH_4$ 在 45℃反应 72 h 后，进行凝胶 Sephadex G-100 柱层析纯化，收集含糖组分，浓缩。用 Sephadex G-25 柱层析进一步纯化，冷冻干燥，得多糖 LbGp4-OL。经元素分析检测不含 N；经茚三酮检测不含氨基酸。在此碱性条件下蛋白链的消除暗示糖链为 *O*-连接糖链。

4. 分子量测定

用凝胶过滤法测定。Sepharose 4B 柱(2 cm×50 cm)用 0.1 mol/L KCl 按流速 10 mL/h 平衡 24 h。将相对分子质量为 25 000、80 000、270 000 和 670 000 的葡聚糖标准品分别上柱，硫酸-苯酚法检测，测定洗脱体积 Ve。用蓝色葡聚糖(相对分子质量 200 万)测得外水体积 V_o。用线性回归法得到回归方程。在同样条件下测定 LbGp4 和 LbGp4-OL 的洗脱体积，由回归方程求得 LbGp4 的相对分子质量为 21.48×10^4，LbGp4-

OL 的相对分子质量为 18.08×10^4。

5. 单糖组成

(1) HPLC 法

LbGp4(2 mg)在 1 mol/L H_2SO_4(2 mL)中封管 100 ℃水解 4 h,用 $BaCO_3$ 中和。纸层析(展开剂为 *n*-BuOH-C_5H_5N-H_2O 6:4:2,显色剂为苯胺-邻苯二甲酸)显示水解完全。HPLC 分析柱为 Carbohydrate Analysis,流动相为乙腈-水(85:15),流速 1.0 mL/min,示差检测。

(2) 气相色谱法

将水解样品进行 $NaBH_4$ 还原和乙酰化制成糖醇乙酸酯衍生物,用 OV-225 毛细管柱,从 180 ℃以 2 ℃/min程序升温至 200 ℃。测得样品含 Rha、Ara 和 Gal,物质的量比为 0.05:1.33:1。HPLC 分析结果与此相符。

6. 单糖连接方式

(1) 甲基化分析

将干燥的 LbGp4-OL 样品(7 mg)加入 DMSO(2 mL)和四甲基脲(2 mL),超声 2 min 使完全溶解。加入甲基亚磺酰甲基钠(1.5 mL),室温搅拌 30 min,于冰浴中滴加碘甲烷(1.5 mL),室温搅拌 1 h,加水(2 mL)淬灭反应,透析,冷冻干燥。IR 检测无羟基吸收,表明甲基化完全;不然则重复甲基化操作直至完全。完全甲基化样品加入 88%甲酸(3 mL),100 ℃水解 3h,减压抽去甲酸,再加 0.125 mol/L H_2SO_4(4 mL),100 ℃反应 16 h。加入 $NaBH_4$(10 mL)和浓氨水(10 μL),室温搅拌 3h。用 HOAc 中和至无气泡产生,减压抽干。再用甲醇溶解并旋转蒸发,重复 6 次以充分带走硼酸。样品在 80 ℃油泵减压干燥后,加吡啶(2 mL)和乙酸酐(2 mL),密封搅拌过夜。油泵抽干,氯仿溶解后过滤以除去不溶盐类,滤液浓缩后作 GC-MS 分析(表 12-9)。

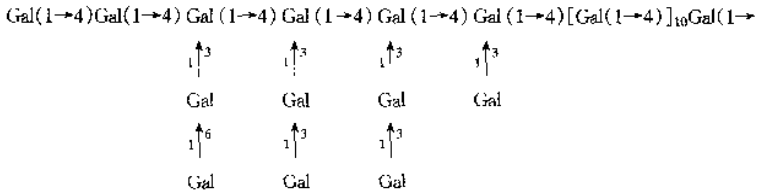
表 12-9　*LbGp4-OL* 和 *LbGp4-OL′* 的甲基化分析结果

GC 峰	MS 显示糖醇衍生物	对应单糖	相对物质的量比	
			LbGp4-OL	LbGp4-OL′
1	1,4-Ac_2-2,3,5-Me_3-Ara	Ara (1→	14	—
2	1,5-Ac_2-2,3,4-Me_3-Rha	Rha (1→	1	—
3	1,3,4-Ac_3-2,5-Me_2-Ara	→3) Ara (1→	6	—
4	1,4,5-Ac_3-2,3-Me_2-Ara	→4 或 5) Ara (1→	10	—
5	1,5-Ac_2-2,3,4,6-Me_4-Gal	Gal (1→	1	5
6	1,3,5-Ac_3-2,4-Me_2-Ara	→3) Ara*p* (1→	2	—
7	1,3,5-Ac_3-2,4,6-Me_3-Gal	→3) Gal (1→	5	2
8	1,4,5-Ac_3-2,3,6-Me_3-Gal	→4) Gal (1→	1	12
9	1,5,6-Ac_3-2,3,4-Me_3-Gal	→6) Gal (1→	1	1
10	1,3,4,5-Ac_4-2,6-Me_2-Gal	→3,4) Gal (1→	16	4

从表 12-9 中可看出,LbGp4-OL 是一个高度分支的多糖,分支点是→3,4)Gal(1→,占所有单糖的 16%。1,4,5-Ac_3-2,3-Me_2-Ara 可能代表 1→4 连接的阿拉伯吡喃糖或 1→5 连接的阿拉伯呋喃糖,尚不得而知。

(2) 部分酸水解

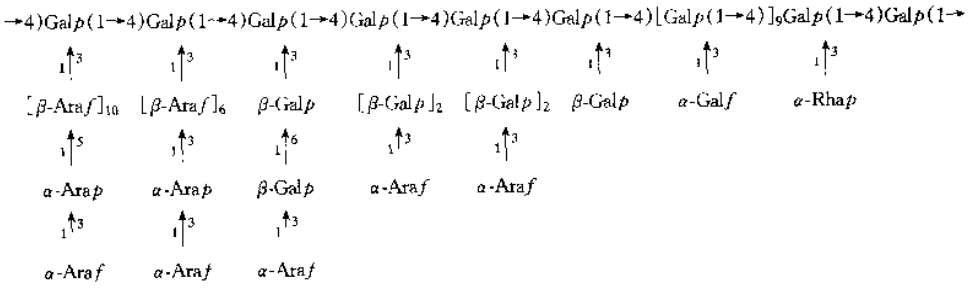
将 LbGp4-OL(5 mg)溶于 0.04 mol/L H_2SO_4(2 mL),于 80℃反应 10 h(由纸层析检测反应进程)。反应液透析除去小分子,冷冻干燥,得 LbGp4-OL′。对 LbGp4-OL′的单糖组分分析表明,Ara:Gal = 1:74.8,即绝大部分 Ara 已被水解(五碳糖比六碳糖易于水解)。由 LbGp4-OL′的甲基化分析结果(表 12-9)可推出其中可能的一种结构如下:



7. 糖基的构型

在 LbGp4-OL 的^{1}H-NMR 谱中，δ 5.31 ppm、5.16 ppm 和 5.14 ppm 出现三组异头碳的 H 信号。在^{13}C-NMR中，异头碳信号出现在 δ 111.9 ppm、110.2 ppm、106.3 ppm、105.4 ppm、104.2 ppm、103.5 ppm 和 101.4 ppm。在失去 Ara 的 LbGp4-OL′的^{1}H-NMR谱中，δ 5.31 ppm、5.16 ppm 和 5.14 ppm 的信号基本消失；同时在^{13}C-NMR谱中，δ 104.2 ppm 和 103.5 ppm 的信号也消失。因此，这些信号由 Ara 残基产生，根据文献可归属为 α 构型的 Ara 呋喃环和吡喃环残基。另外，δ 101.2 ppm 的信号可归属为 α-Rha 的异头碳；δ 105～107 ppm 的信号可归属为 β-Gal$p$ 的异头碳。

综合以上这些信息，可推导出 LbGp4-OL 的一种可能结构如下：



第五节 碳水化合物的化学合成

天然碳水化合物主要以糖缀合物的形式存在并起作用，如糖蛋白、糖肽和植物糖苷等。糖缀合物中的糖链又常以“糖型”的形式存在，构成糖缀合物的微观不均一性。因此，从天然来源获得结构单一的糖缀合物是非常困难的，化学合成就显得尤为重要。

一、糖苷键的化学合成

碳水化合物的化学合成包括以天然碳水化合物（主要是单糖）为原料的有机合成，主要是利用其中丰富的手性中心[32]；也包括利用其他小分子合成天然的单糖，主要是合成少见的氨基糖和脱氧糖[33]，而最主要的内容是合成天然的寡糖及缀合物，如糖肽、糖脂和植物糖苷等。因而其中的化学核心是糖苷键的合成，即糖的异头位缩醛的合成（图 12-11）。直接脱水生成糖苷键的反应需要强烈的条件；因而通常先用离去基团（X）来活化异头位，制备成糖基给体，再在促进剂的作用下生成糖苷化产物。影响糖苷化反应的主要因素

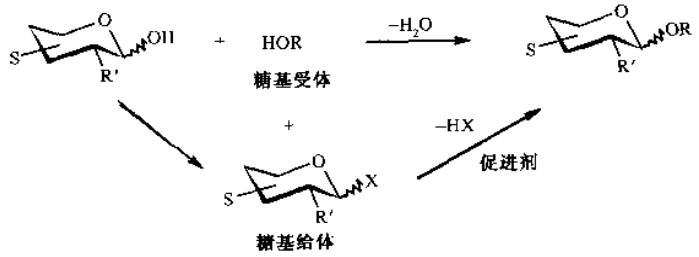


图 12-11 糖苷键的化学合成

有:①糖基受体的性质,如羟基的活性、位阻和受体分子上其他官能团的影响等;②糖基给体的性质,如离去基团 X、2 位取代基 R′、其他位取代基 S;③反应条件,如促进剂、溶剂、温度等。看似简单的这一化学转化却蕴含着复杂。

1. 糖基给体[34]

虽然影响糖苷化反应的因素很多,但其中影响最大的是糖基给体的异头位离去基团,它也决定了糖苷化反应的条件如促进剂和反应温度等。因此,糖苷化反应一般以糖基给体异头位离去基团的类型来分类。下面列出使用较多的糖基给体并在括弧中列出它们相应的最常用促进剂(图 12-12)。

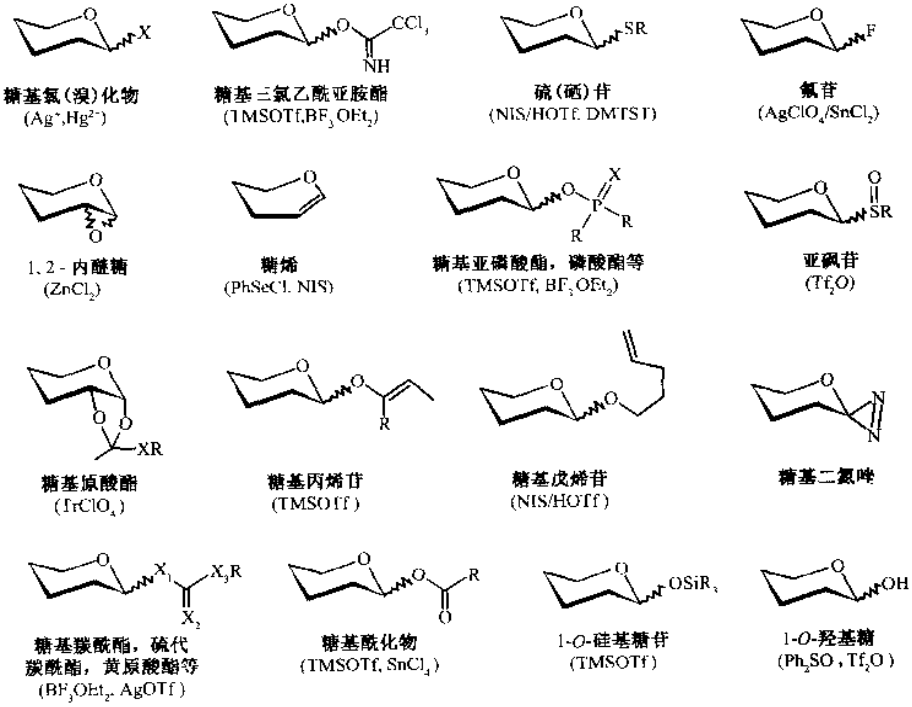


图 12-12　常用糖基给体及其促进剂

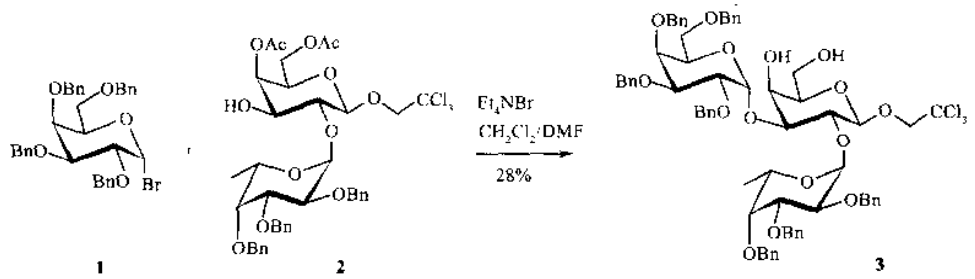
任何一个糖苷化方法的适用性都是有限的,难以满足糖苷键的多样性。目前最常使用的糖基给体是:糖基三氯乙酰亚胺酯、硫苷和糖基卤化物。其他糖苷化方法基本上只有个别研究小组使用。下面就主要的糖苷化反应做一些介绍。

(1) 糖基氯化物和溴化物[35,36]

使用糖基氯化物和溴化物作为糖基给体,银盐和汞盐作促进剂的糖苷化反应被称作 Koenigs-Knorr 反应,发现于 1901 年[37],是 20 世纪 80 年代以前最重要的糖苷化反应。后来发现也可使用 Bu_4NBr 等作为促进剂,以避免使用有毒易爆的银盐和汞盐。在 Koenigs-Knorr 反应的长期应用中也发现加入质子捕捉剂(如 2,4,6-三甲基吡啶和四甲基脲)和加入干燥剂(如分子筛)可以大大减少副产物的生成,这也成了以后糖苷化反应的标准操作。20 世纪 70 年代,Lemieux 等利用糖基氯化物和溴化物作为给体对血型决定簇寡糖的合成是当时代表性的工作。图 12-13 是其中的一个例子[38]。全苄基保护的半乳糖基溴化物 **1** 与只裸露 3 位羟基的二糖受体 **2** 在 Et_4NBr 的促进下发生糖苷化反应,以 28% 的产率分离得到脱去两个乙酰基的 α-糖苷化产物 **3**。在 20 世纪 80 年代以前,大多数的糖苷化反应产率如此之低。

(2) 糖基三氯乙酰亚胺酯[39,40]

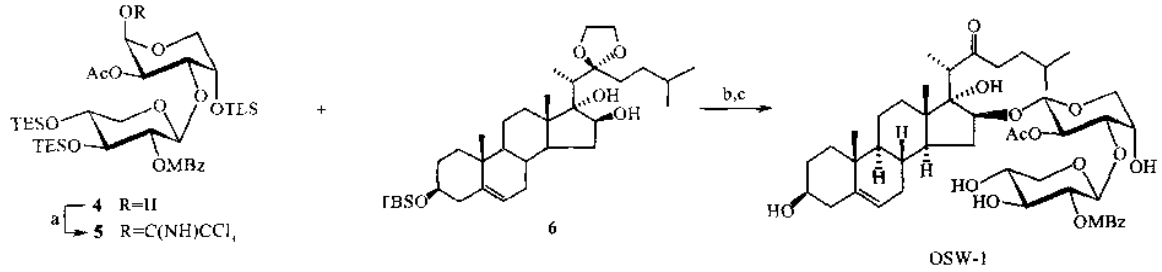
1980 年,Schmidt 发展了糖基三氯乙酰亚胺酯作为给体的糖苷化反应[41],这是糖苷键化学合成上的一



1 2 3

图 12-13

个重要进展。此前，Sinaÿ 等曾尝试过其他糖基亚胺酯作为给体，但反应活性较差[42,43]。最近，糖基三氟乙酰亚胺酯也被用做糖基给体[44]。糖基三氯乙酰亚胺酯制备容易，稳定性较好，大多可通过柱层析纯化并保存数月。糖苷化反应可用催化量的 BF_3OEt_2 和 TMSOTf 等作为促进剂，条件温和，并对大多数的糖苷键的合成能得到较好的产率。因此，已成为目前合成糖苷键，特别是合成复杂分子糖苷键的首选反应。在对抗肿瘤皂苷 OSW-1 的合成中，二糖与苷元的连接就使用了这一糖苷化方法(图 12-14)[45]。



6 OSW-1

图 12-14

a. Cl_3CCN, DBU, CH_2Cl_2, rt, 65%; b. TMSOTf(0.05 当量), CH_2Cl_2, −20℃, 69%; c. $Pd(MeCN)_2Cl_2$, CH_3COCH_3-H_2O(20:1), rt, 79%

(3) 硫苷[46]

虽然 Ferrier 等在 1973 年就尝试了以 $HgSO_4$ 为促进剂、以硫苷为给体的糖苷化反应[47]。只有在 10 多年以后，更温和的活化条件的发现才使硫苷成为广泛使用的糖基给体。现在常用的促进剂有 NIS/HOTf (AgOTf)、IDCP、DMTST 等。以硫苷做给体的糖苷化反应对许多糖苷键的形成非常有效，如在树脂糖苷 TricolorinA 的合成中(图 12-15)，二糖硫苷 **8** 与二糖大环内酯受体 **7** 在 NIS/AgOTf 的促进下实现糖苷化偶联，以 86%的产率得到全保护的目标分子前体 **9**[48]。硫苷最突出的优点是它们的稳定性强，它们能容忍许多保护基操作和其他反应条件。这一特点在寡糖和糖缀合物的高效合成策略中扮演了非常重要的角色，这从后面的介绍中可以看到。

(4) 糖基氟化物[49]

与糖基氯化物和溴化物相比，糖基氟化物非常稳定。在 1981 年，Mukaiyama 等用 $AgClO_4$-$SnCl_2$ 作促进剂首次把糖基氟化物用作糖基给体[50]。此后，许多促进剂被开发出来，加上其稳定性，糖基氟化物遂成为一种颇为常用的糖基给体。Nicolaou 等对 Le^X 糖脂的合成是应用糖基氟化物给体的一个代表性的例子(图 12-16)。二糖氟苷 **10** 与长链醇 **11** 在 $SnCl_2$/AgOTf 的促进下以 84%得到相应的偶联产物，经保护基操作转化到受体二醇 **12**。三糖氟苷 **13** 与 **12** 的糖苷化反应在 Cp_2HfCl_2/AgOTf 的促进下进行，区域选择性地以 91%的产率得到五糖苷 **14**[51]。

(5) 糖烯[52]

糖烯的一种用途是用来合成 2 位脱氧糖苷。主要是通过亲电加成直接合成糖苷化合物，或先合成 2 位

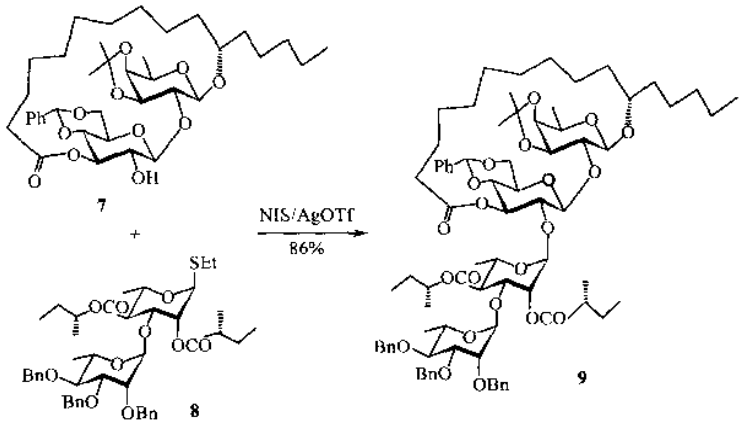


图 12-15

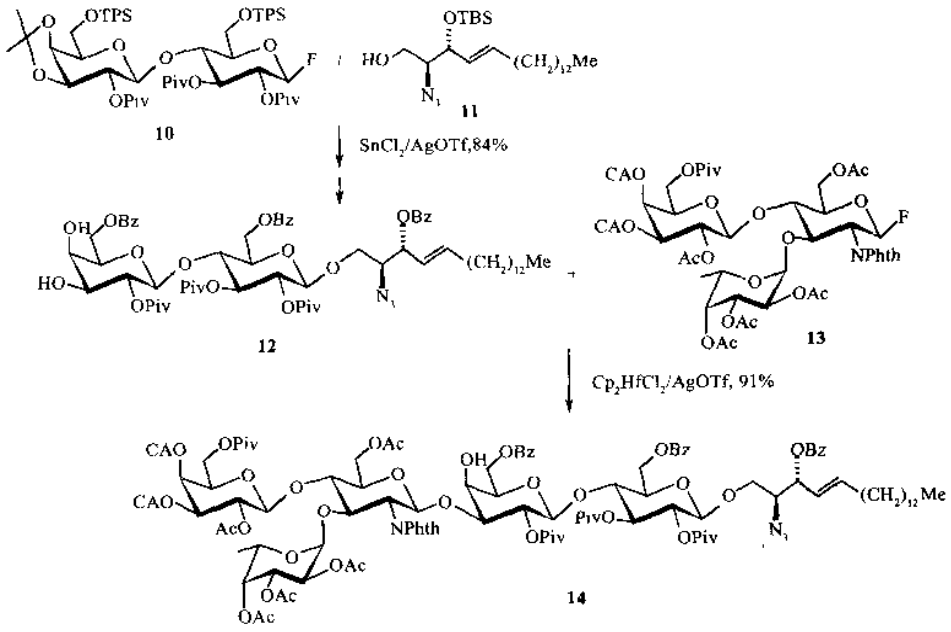


图 12-16

杂原子基团(如 I、Br、SR 和 SeR 等)取代的糖基给体,最后脱去 2 位取代基(图 12-17)。

Danishefsky 小组从 1989 年开始系统地研究了利用糖烯的糖苷化方法,他们用过氧丙酮(DMDO)把糖烯转化为 1,2-内醚糖,再以 1,2-内醚糖为给体在 $ZnCl_2$ 的促进下进行糖苷化反应。该方法的明显优点是糖烯又可作为受体进行反应,生成的寡糖可再转化为相应的 1,2 -内醚糖,然后再进行下一步糖苷化反应。具体的例子将在后面固相合成中介绍。

(6) 糖基亚磷酸酯和磷酸酯

糖基亚磷酸酯和糖基三氯乙酰亚胺酯比较相似,都从 1-羟基糖来制备,都可用 BF_3OEt_2 和 TMSOTf 作促进剂,反应活性也相当[53]。糖基磷酸酯较稳定[54]。另外,3 价磷和 5 价磷原子上的取代基可有多种变化,从而衍生出 10 余种以含磷基团为离去基的糖基给体,但都未显示出特别的优点。值得提到的是,在生物体中糖苷化反应都是以糖基磷酸酯或焦磷酸酯为给体进行的。

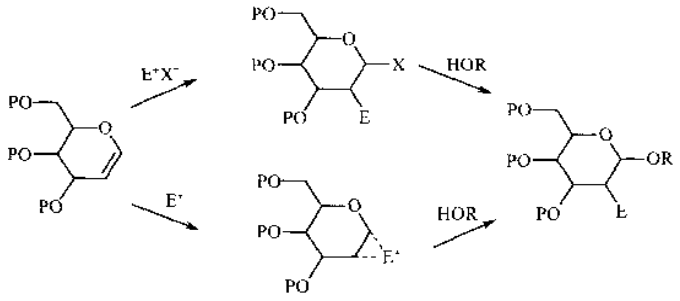


图 12-17 以糖烯为给体的糖苷化反应

(7) 亚砜苷

1989 年,Khane 等用 Tf_2O 体系来进行亚砜苷的糖苷化反应[55],并发现这一反应能顺利地实现一些高位阻不活泼受体的糖苷化,因而这一糖苷化反应得到较大重视。Crich 等近来对这一反应的机制研究表明,糖苷化的活泼中间体是糖基三氟甲磺酸酯,而这样的中间体也可以在其他糖基给体的糖苷化条件下产生[56]。

(8) 糖基原酸酯

以糖基原酸酯作为给体的糖苷化反应是 20 世纪 70 年代除了 Koenigs-Knorr 反应以外的几乎惟一选择。对此反应的大量研究主要由 Kochetkov 小组做出[57]。

(9) 糖基戊烯苷[58]

1988 年,Fraser-Reid 等报道了以糖基戊烯苷为给体的糖苷化反应[59],其吸引人之处是活化方式较为新颖(亲电基团首先活化远离异头位的双键)。另外,戊烯苷即可作为给体又可作为受体,这一特点与硫苷和糖烯类似。但是对戊烯苷给体的研究的最大贡献是发展了糖苷化反应中一个重要的概念——"Armed-disarmed"概念[60],即保护基对糖基给体反应活性的影响很大,大到足以被某些糖苷化条件区分或被活化以进行糖苷化反应或稳定不变。这样,糖苷化反应就可连续进行,如图 12-18 所示[60],给电子的苄基取代的戊烯糖苷**15** 比吸电子的乙酰基取代的戊烯糖苷**16** 活泼,故在较温和的促进剂 IDCP 的作用下活化,而后者不能,生成糖苷化产物二糖**17**,二糖戊苷**17** 在较强的促进剂 NIS/HOTf 的作用下活化与受体**18** 发生糖苷化反应生成三糖**19**。在上述两步糖苷化之间避免了保护基操作。这一概念对寡糖和糖缀合物的高效合成有突破性的贡献,这将在后面的讨论中提及。

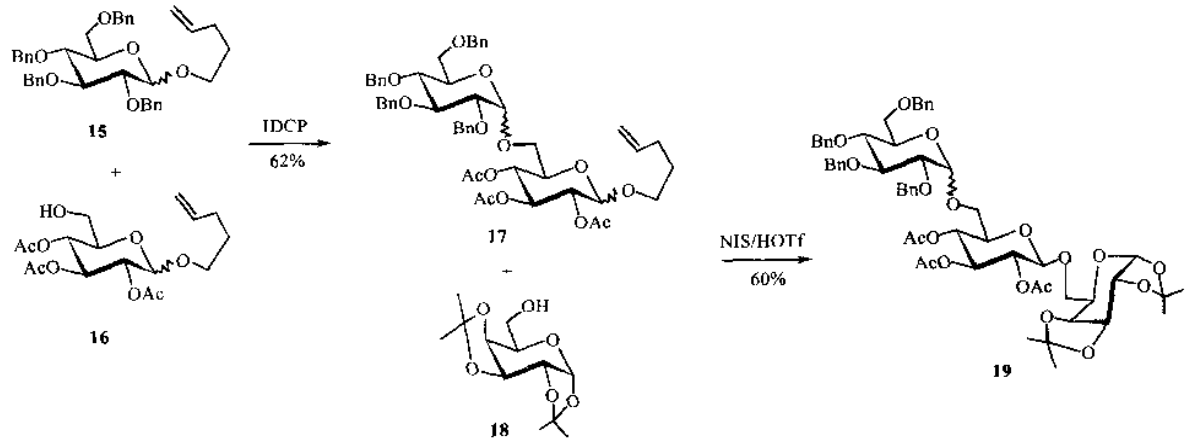


图 12-18 "Armed-disarmed"概念用于寡糖合成

(10) 1-羟基糖

在酸的作用下，用 1-羟基糖做给体，即直接用糖基半缩醛和受体羟基脱水生成糖苷键是和 Koenigs-Knorr 反应一样古老的反应，被称为 Fischer-Helferich 反应，只能用来合成一些简单的糖苷化合物，如单糖甲苷。近来，也发展了一些较温和的脱水糖苷化体系，如最近的 PhSOPh/Tf_2O/collidine 体系[61]。与糖基三氯乙酰亚胺酯等相比，使用 1-羟基糖进行直接糖苷化免去了制备给体的一步反应，因而显得更有效。Schmidt 等用糖基 1-氧负离子与醇的三氟甲磺酸酯反应合成糖苷键使用的则是与通常糖苷化反应不同的思路[39,40]。

2. 寡糖合成中的区域选择性

每个糖基含有多个反应活性相差不大的羟基，区域选择性糖苷化除了在极少数例子中基本上不能实现，因而原则上必须依靠复杂的保护基策略来保护所有不参与反应的羟基。在复杂寡糖的合成中保护基操作一般占总工作量的 80% 以上。保护基也不仅仅起保护的作用，在很多时候还影响甚至控制了反应的进程，是合成成功与否的重要因素。由于保护基化学的复杂性和特殊性，在此不进行讨论，读者可参考有关专著和综述[62~64]。

3. 糖苷化反应的立体选择性

完全立体选择性的糖苷化反应主要由邻位(2 位)基团来控制，由此可分成以下 3 种情况来讨论。

1) 1,2-反式糖苷键的合成。这是最容易控制的糖苷化反应，只要 2 位带有酰基保护基，1,2-反式糖苷化产物往往是惟一的产物。反应被认为是通过以下途径进行的(图 12-19)[65]

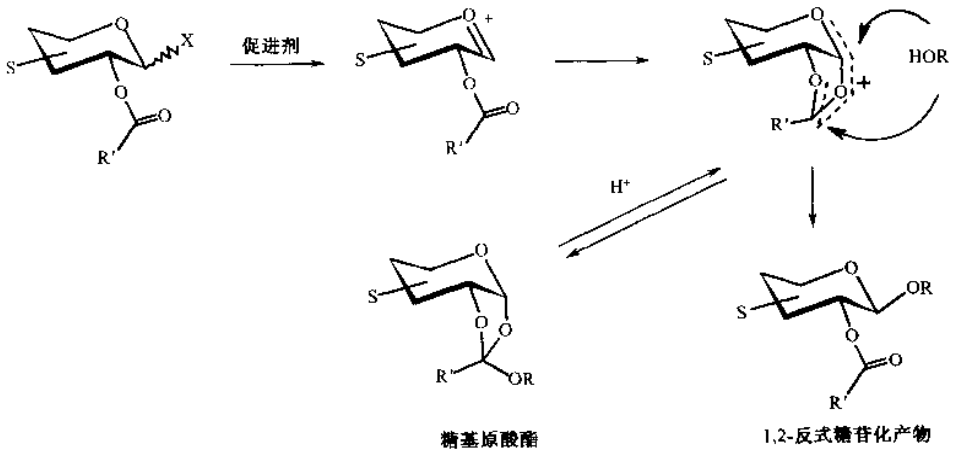


图 12-19　通过邻基参与合成 1,2-反式糖苷化产物

其中一个主要的副反应是原酸酯的生成，这在不活泼羟基的糖苷化反应中常常遇到。糖基原酸酯在酸性条件下不稳定，可以转化成糖苷化产物，但同时也往往产生出其他多种副产物。增大 R′基团是抑制原酸酯生成的一个方法。巧妙地利用糖基原酸酯的生成并到糖苷化产物的转化，却可以高区域选择性的合成寡糖，图 12-20 中对一个五糖的高效合成正是成功地使用了这种方法[66]。

2) 1,2-顺式糖苷键的合成。2 位取代基无论通过参与作用或空间影响，都不利于 1,2-顺式糖苷键的形成。以往选择性合成 1,2-顺式糖苷键的方法只能利用吡喃环的异头碳效应，即 α 糖苷化产物比相应的 β 产物稳定，故热力学控制的产物以 α 为主。一方面这种控制的程度有限；另一方面甘露糖构型的 1,2-顺式产物是热力学不稳定的 β 异构体，从而无法控制。进而发展了原位异头位异构(*in situ* anomerisation)或溶剂参与等方法，但适用的范围非常有限[35,36]。近来发展的利用 2 位取代基的输送的方法较好的解决了这一问题(图 12-21)[67~69]。

3) 2 位脱氧糖糖苷键的立体选择性合成。失去了 2 位基团，2 位脱氧糖糖苷键的立体选择性无从控制，

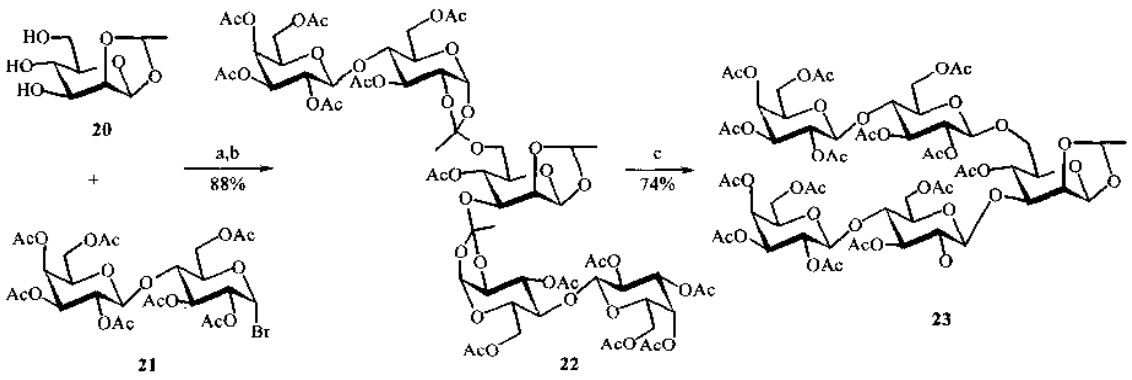


图 12-20 a. AgOTf, 2,4-lutidine, CH_2Cl_2, 4ÅMS; b. Ac_2O, pyridine; c. TMSOTf, CH_2Cl_2, 4ÅMS

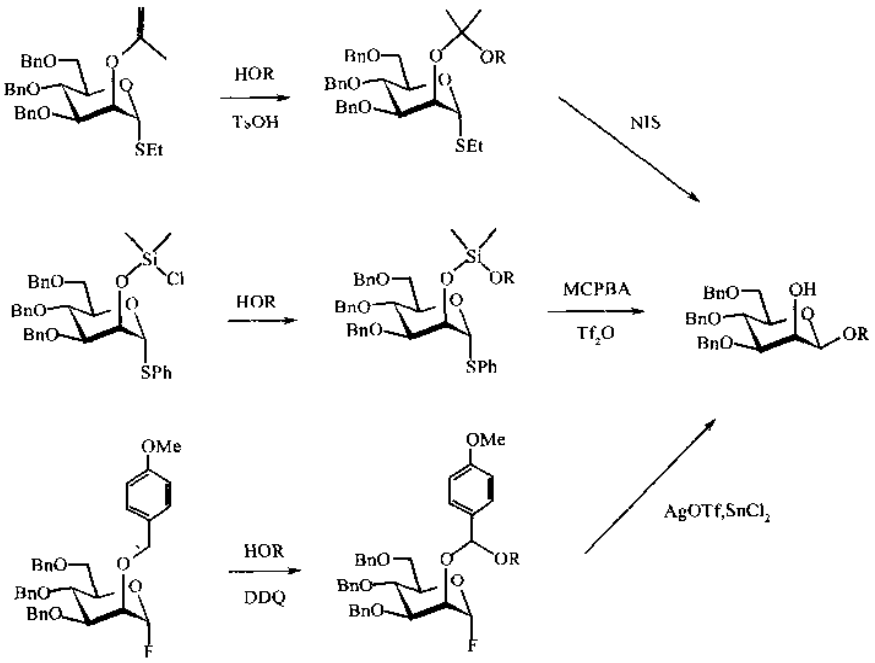


图 12-21 通过邻基输送合成 1,2-顺式糖苷化产物

同时其糖苷键也较不稳定。在一般的糖苷化条件下，热力学稳定的 α-糖苷化产物为主要产物。β-糖苷化产物只能通过迂回的路线来合成，即先在 2 位安上有邻基参与作用的基团，等立体选择性的合成了 β-糖苷键后再行脱除(图 12-22)。

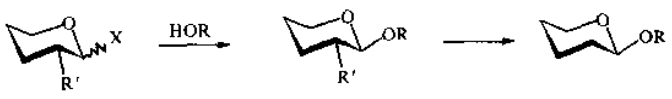


图 12-22 β-脱氧糖苷键的合成[R′ = Br, I, SR, SeR, NHCHO, OAc, OC(S)Ph 等]

制备 2 位特殊取代基的给体往往需要多步操作。通过硫苷的 1,2 迁移同时糖苷化则提供了一条简便的合成路线。图 12-23 是用 2,3-*O*-硫代羰酰酯硫苷做给体来实现这样的转化[70]。

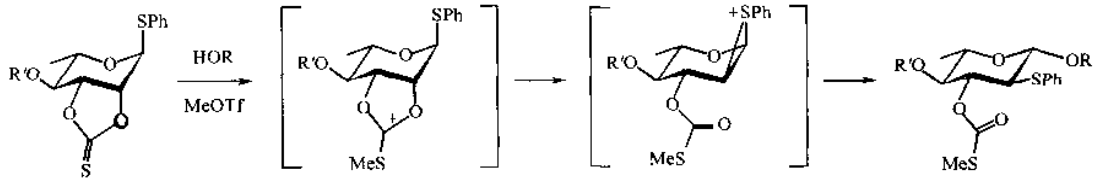


图 12-23　通过 1,2 硫迁移同时糖苷化合成 2-脱氧-β-糖苷

4）硫糖苷、氮糖苷和碳糖苷的合成。硫糖苷、氮糖苷的合成与通常的氧糖苷的合成类似，但不尽相同。碳糖苷的合成在化学本质上不同，是碳—碳键的合成，故不在此进行讨论，读者可参考最近的综述和专著[71~73]。

二、糖苷键的酶促合成[74]

上述糖苷键的化学合成需要控制复杂的区域选择性和立体选择性，因而费时费力。相比之下，酶促合成具有很大的优势。然而，糖苷键的酶促合成有其自身的复杂性。生物体中合成糖苷键的糖基转移酶大多是定位于内质网和高尔基体等细胞内膜的膜蛋白，得来不易，且不稳定，使用基因重组技术也较难获得。糖基转移酶对底物结构的专一性非常强，一个糖基转移酶一般只能合成一种糖苷键。糖基转移酶利用的给体主要是糖基焦磷酸核苷，在体内由多种酶的作用来合成，体外制备不易。不过，由于基因重组技术的进步，越来越多的糖基转移酶的获得变得容易，因此，寡糖和糖缀合物的酶促合成在近年有了很大的发展。图 12-24 中，Wong 等对三糖 NeuAcα2,3Galβ1,4GlcNAc 的合成是其中代表性的例子[75]。在合成中，唾液酸给体唾液酸单磷酸胞苷(CMP-NeuAc)在多种酶的作用下再生而循环使用，避免了使用当量的昂贵的给体，并消除了给体和产物胞苷单磷酸(CMP)对糖苷化反应的抑制作用。

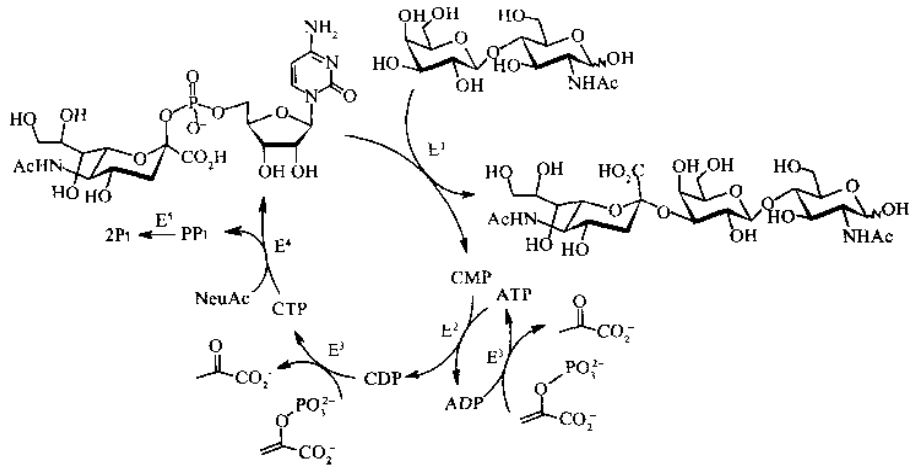


图 12-24

E^1 = α-2-3 唾液酸转移酶；E^2 = 核苷单磷酸激酶；E^3 = 丙酮酸激酶；E^4 = CMP-唾液酸合成酶；E^5 = 焦磷酸酶

由于能获得的糖基转移酶的数量在目前还非常有限，糖苷键酶促合成的应用还很少。另外，非天然结构的寡糖类似物的合成难以用酶促的方法进行，而合成这些结构对于发展诸如糖基转移酶抑制剂等药物是必要的。因此，化学方法和酶促方法的联合使用是合成复杂寡糖和糖缀合物的现实手段。

三、合成寡糖和糖缀合物的新策略[76]

随着糖苷化和保护基方法的迅猛发展，越来越多的复杂寡糖和糖缀合物的化学合成已成为可能。需要突破的是如何高效快速的合成寡糖和糖缀合物，实现像核酸和多肽一样的自动化或半自动化合成。由于糖结构的复杂性，寡糖和糖缀合物的合成在总体上也许永远达不到像核酸和多肽合成那样的水平，但是部分结构类型的寡糖和糖缀合物的合成还是有希望在不远的将来实现自动化。下面就高效合成寡糖和糖缀合物的两个最新的策略做一简单介绍。

1. 连续糖苷化法

寡糖和糖缀合物的合成往往步骤长、效率低。其中的一个原因是在每步糖苷化连接之间必须经过数步保护基操作，或者把异头位保护基转化为合适的离去基团以用做糖基给体或裸露某个特定的羟基以用做糖基受体。连续糖苷化策略就是通过调控糖基给体和受体的活性，使两步或多步糖苷化连续进行，从而免除糖苷化反应之间的保护基操作和中间体的分离纯化，使合成效率大大提高。从已有的例子可分成以下三种类型：

(1) 利用糖基给体活性的差别来实现连续糖苷化

糖基给体的活性又可有两种方法来调控。一是利用保护基的不同，这在上面对糖基戊烯苷的介绍中已提到。Fraser-Reid 等提出的"armed-disarmed"概念随后被推广到硫苷和糖烯等其他给体。最近，Wong 等测定了近百种硫苷的相对活性，并编写了计算机程序，该程序可根据目标分子的结构建议采用相应的硫苷，使合成中的糖苷化连续进行[77]。另一种调控糖基给体活性的方法是使用不同的离去基团[78~80]。

(2) 利用糖基受体活性的差别来实现连续糖苷化

如果糖基受体的两个或多个羟基(或其保护形式)的活性有足够大的差别，以致在一定的糖苷化条件下可被区分，那么也可实现连续糖苷化反应[81, 82]。

(3) 同时利用糖基给体和受体活性的差别来实现连续糖苷化

如图 12-25 所示，对刺五加皂苷**34** 的合成正是采取了这种策略[83]。以 0.3 当量的 TMSOTf 为促进剂在 -60℃下，阿拉伯糖三氯乙酰亚胺酯给体**24** 和齐墩果酸三苯基甲基酯**25** 发生糖苷化反应生成 3 位羟基糖苷化产物**26**。升高温度到室温，**26** 的 28 位三苯基甲基酯在体系中由上步反应产生的 HOTf 的作用下断裂生成酸**27**；在加入葡萄糖基三氯乙酰亚胺酯给体**28** 后，发生糖苷化反应生成 **29**。鼠李糖基三氯乙酰亚胺酯给体 **30** 在 0.2 当量的 TMSOTf 促进下与 4 位羟基裸露的葡萄糖苯硫苷**31** 发生糖苷化反应得到二糖硫苷**32**。在此条件下，硫苷保持稳定。**32** 未经处理直接加入 **29**，然后加入 3 当量的 NIS 和 1.5 当量的 TMSOTf，在此条件下，硫苷**32** 被活化与 **29** 的葡萄糖 6 位三苯基甲基醚保护的羟基直接发生糖苷化反应生成四糖皂苷**33**。以上 4 步糖苷化反应连续进行，总产率达 62%。其中，分别利用了受体羟基和羧基三苯基甲基酯，羧基三苯基甲基酯和羟基三苯基甲基醚的活性差别，以及给体三氯乙酰亚胺酯和硫苷的活性差别。

2. 固相合成法[84, 85]

核酸和多肽的固相自动化合成为核酸和多肽的生物学研究带来了极大的便利。近来，主要是基于固相合成的组合化学又为众多领域提供了革命性的手段。对于寡糖的固相合成虽已有较多的研究，但仍未取得突破性的进展。从根本上说，在非均相中进行的固相反应的效率不会优于均相进行的液相反应，因而，在寡糖液相合成尚不成熟的情况下，寡糖的固相合成更显困难。用可溶性聚乙二醇作载体的寡糖固相合成可在均相中进行，反应结束后加入不良溶剂可沉淀出来，这样的方法虽然结合了固相和液相反应的优点，但也削弱了固相合成后处理方便的优点，难于自动化进行。在固相寡糖合成中，除了与液相合成相对应的糖苷化反应和保护基操作之外，还有以下三个重要的内容：

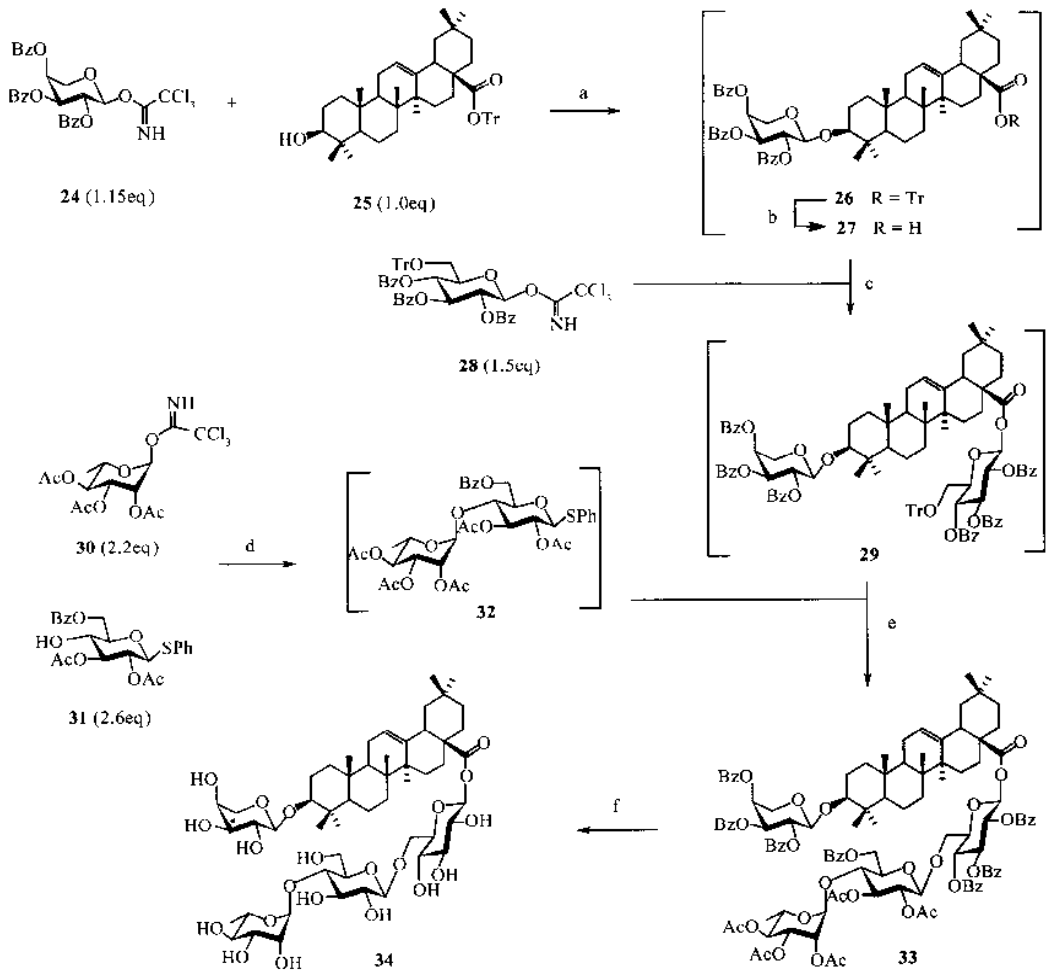


图 12-25　"连续糖苷化"策略合成糖缀合物

a. TMSOTf(0.3eq), CH_2Cl_2, 4Å MS, −20℃, 20 min; b. rt, 20 min; c. 0℃, 20 min; d. TMSOTf(0.2eq), CH_2Cl_2, 4Å MS, −70℃-rt;
e. TMSOTf(1.5eq), NIS(3eq), CH_2Cl_2, 4Å MS, −15℃, 15 min, 62%(以**25** 计算); f. 0.2% NaOMe, HOMe, CH_2Cl_2, rt, 2h, 73%

(1) 固相载体

传统的聚苯乙烯树脂具有高的负载量和便宜的价格。聚乙二醇支载的聚苯乙烯树脂有更好的溶胀性。近来发展的交联的聚乙二醇树脂溶胀性更好，并且适合于直接用酶或受体来筛选尚连于固相的分子的活性。

(2) 连接分子

连接分子可以看成是一个双官能团的保护基，一端连接固相载体，另一端连接目标分子，并且要求在反应中保持稳定，合成结束后又能被选择性切断。在寡糖的合成中因为涉及众多的羟基保护，设计合适的连接分子有很大的难度。

(3) 检测方法

跟踪检测固相反应较液相反应有很大的困难，特别对于寡糖这样的复杂分子，红外光谱和固相核磁共振等不能得到可分辨的谱图，往往需要把每步反应的产物从固相上切下再做鉴定。因此，在寡糖的固相合成中发展方便的检测方法也是十分关键的。

从寡糖的合成策略上看，寡糖的固相合成可分成两种。第一种，也是最主要的一种是寡糖向非还原端延伸。每个反应循环包括两步，即脱除固相糖链上需糖苷化的羟基的保护基，和加入过量的糖基给体进行糖苷

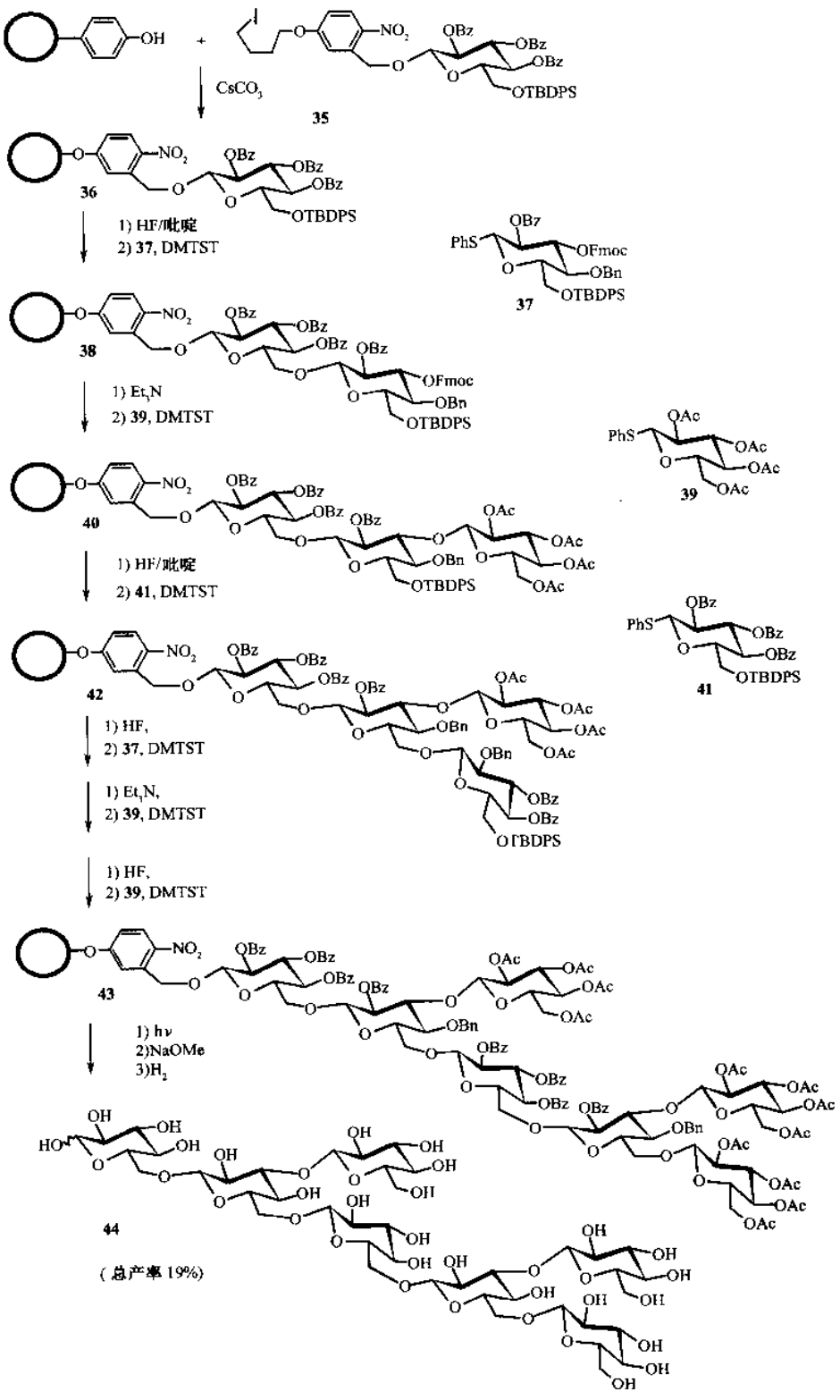


图 12-26 通过向非还原端延伸固相合成葡聚七糖

化反应。Nicolaou 等对葡聚七糖**44** 的合成采用了这种策略(图 12-26)[86]。连接分子使用了可用光照脱除的邻硝基苄基。每个糖苷化延伸包括两步:①用三乙胺脱除 Fmoc 保护或用 HF-Py 脱除 TBDPS 保护;②使用过量的单糖硫苷(**37**、**39** 或 **41**)在 DMTST 的促进下进行糖苷化反应。最后,目标七糖**44** 通过光照从固相切下,再经甲醇钠脱除酰基,氢化脱除苄基。

第二种寡糖固相合成策略是寡糖向还原端延伸。每个反应循环包括两步:活化连于固相的末端糖基成糖基给体和加入过量受体进行糖苷化反应。这种策略目前仅局限于基于糖烯的寡糖合成。图 12-27 所示是 Danishefsky 等应用糖烯策略对四糖**50** 的固相合成[87]。含 1% 苯二乙烯交联的聚苯乙烯树脂经丁基锂和二苯基二氯化硅处理生成含三苯基氯硅烷的树脂,与糖烯**45** 反应得到固相通过硅醚连于糖烯 6 位羟基的**46**。接下去每个反应循环包括两步:①用过氧丙酮处理生成末端糖基 1,2-内醚给体;②加入二氯化锌和过量的糖基受体糖烯**45**,使进行糖苷化反应。经三次循环,得到连于固相的四糖**49**。最后,用氟化四丁胺断裂非还原端硅醚连接,得到目标四糖 **50**。以糖烯 **46** 计算,总产率为 32%,相当于每个糖苷化循环的产率为 70%。

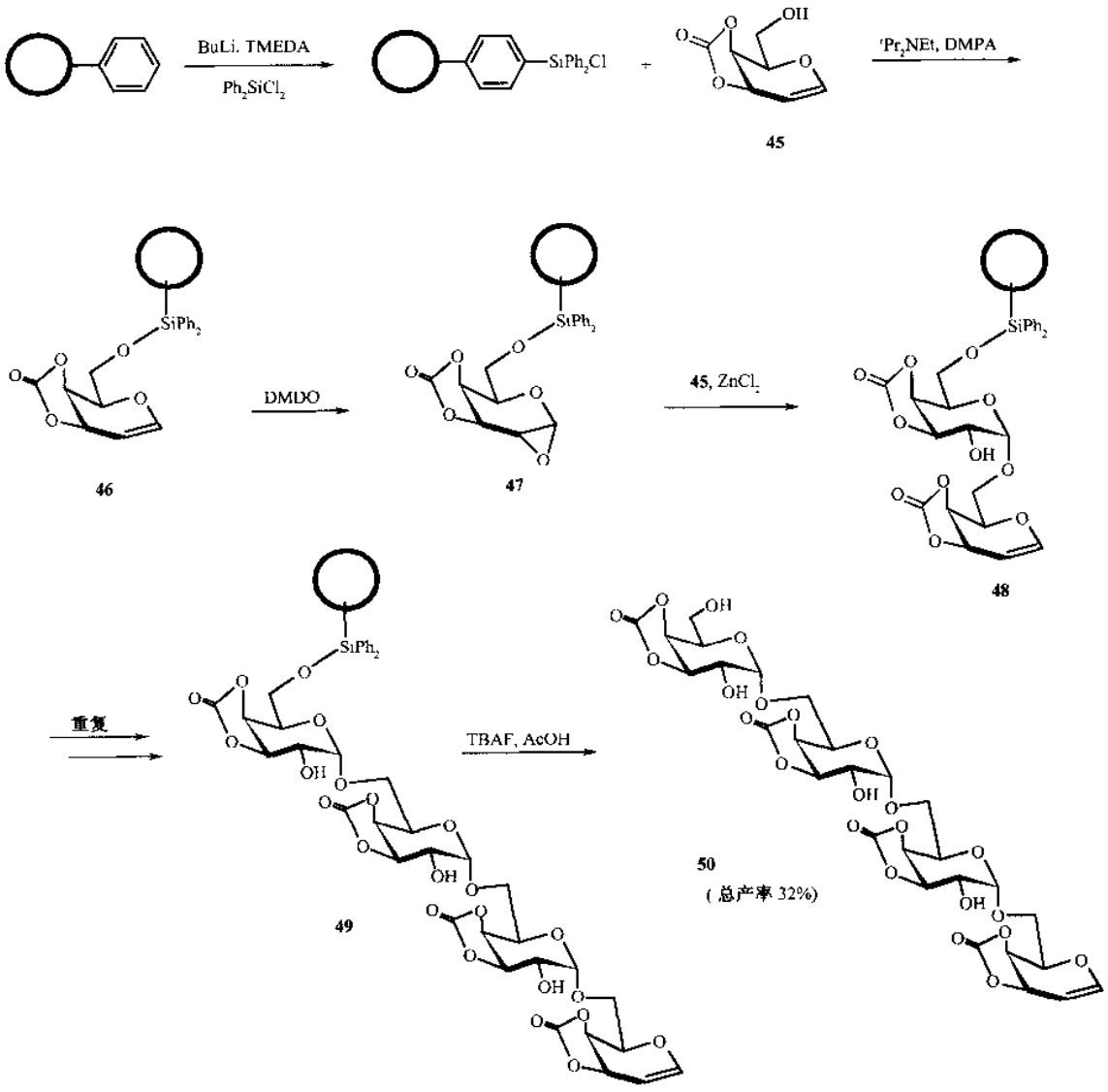


图 12-27　通过向还原端延伸固相合成四糖

四、合成实例

皂苷**56** 是从蒜属植物 *Allium vineale* 中分离得到的一个结构简单的甾体皂苷。如图 12-28 所示的合成路线使用了最常用的寡糖合成方法[88, 89]。下文给出了合成中主要反应的具体实验操作，包括：①糖基三氯乙酰亚胺酯**51** 的制备；②硫苷**52** 的制备；③以三氯乙酰亚胺酯**51** 为给体的糖苷化反应制备二糖**53**；④以二糖硫苷**53** 为给体的糖苷化反应制备三糖苷 **55**。

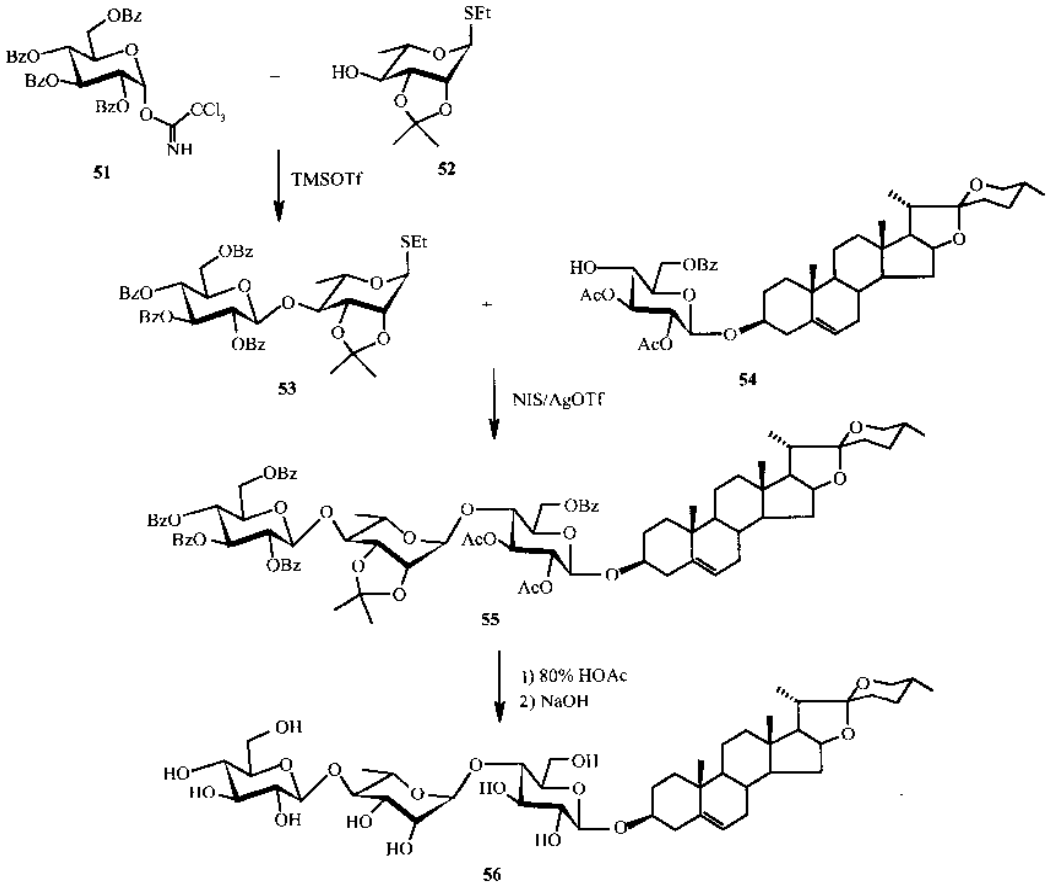


图 12-28 三糖皂苷 56 的化学合成

[例 1] 2,3,4,6-四-*O*-苯甲酰基-α-D-葡萄吡喃糖基三氯乙酰亚胺酯(**51**)的制备(图 12-29)。

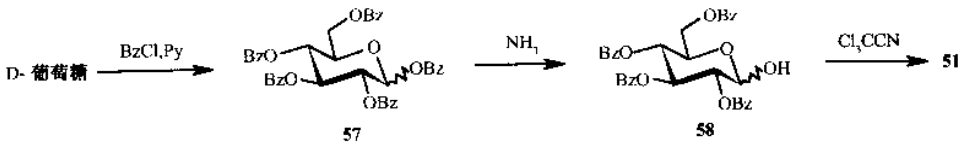


图 12-29

将 D-葡萄糖(15 g,83.2 mol)溶于无水吡啶(125 mL)。在冰浴下，滴加苯甲酰氯(60 mL,6 eq)。室温下搅拌 3 h 后，加入甲醇(10 mL)中止反应。反应液倒入冰水(500 mL)，有白色固体析出，过滤，水洗数遍，烘干得白色固体 1,2,3,4,6-五-*O*-苯甲酰基-D-葡萄吡喃糖(**57**)(58 g,100%)。

将**57**(2.0g,2.8 mmol)溶于无水四氢呋喃/甲醇(7:3,100 mL)。在0℃下,通入氨气20 min。室温下搅拌0.5h后,反应液减压浓缩,硅胶柱层析纯化(石油醚:乙酸乙酯=4:1),得白色泡沫状固体2,3,4,6-四-*O*-苯甲酰基-D-葡萄吡喃糖(**58**)(1.4g,82%)。

将**58** (1.05g,1.8 mmol)溶于无水二氯甲烷(10 mL)。在0℃下,滴加三氯乙腈(0.92 mL,9.2 mmol),然后加入DBU数滴。室温下搅拌1h后,反应液减压浓缩,硅胶柱层析纯化(石油醚:乙酸乙酯=4:1),得白色泡沫状固体**51** (1.24g,95%)。

[例2]　乙基2,3-*O*-异丙叉基-1-硫-α-L-鼠李吡喃糖苷(**52**)的制备(图12-30)。

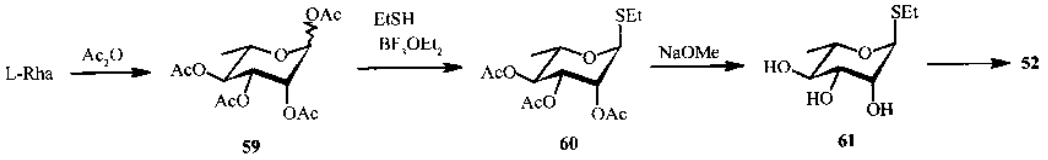


图12-30

将带一份结晶水的L-鼠李糖(9.7g,53.2 mmol)和乙酸钠(6.4g,78.0 mmol)溶于乙酸酐(90 mL)。加热回流10 min,溶液变成澄清的红棕色。倒入冰水中,搅拌,放置过夜。乙酸乙酯提取三次,有机相依次用饱和碳酸氢钠水溶液和饱和食盐水洗涤,无水硫酸镁干燥,过滤,浓缩,硅胶柱层析纯化(石油醚:乙酸乙酯=4:1),得无色糖浆状1,2,3,4-四-*O*-乙酰基-L-鼠李吡喃糖(**59**)(19.2g,100%)。

在氮气保护下,将**59** (17.7g,53.2 mmol)溶于无水二氯甲烷(100 mL),加入乙硫醇(6 mL,81.0 mmol),在搅拌下滴加$BF_3 \cdot OEt_2$(8 mL,65.1 mmol)。室温搅拌过夜。减压浓缩。用石油醚和乙酸乙酯重结晶得白色晶体β异构体(2.4g)。再次重结晶得白色晶体乙基2,3,4-三-*O*-乙酰基-1-硫-α-L-鼠李吡喃糖苷(**60**)(6.0g)。母液浓缩后用硅胶柱层析分离(石油醚:乙酸乙酯=2:1),又得**60** (6.0g,共70%)。

将**60** (4.0g,12.0 mmol)溶于无水甲醇(40 mL)。在室温下,加入催化量甲醇钠。搅拌2h后,加入阳离子树脂(H^+)中和,过滤,浓缩,得无色糖浆乙基1-硫-α-L-鼠李吡喃糖苷(**61**)(2.5g,100%)。

将**61** (0.57g,2.8 mmol)溶于2,2-二甲氧基丙烷(6.2 mL)。室温下,加入对甲苯磺酸(47 mg)。搅拌1h后,加入二氯甲烷稀释,依次用饱和碳酸氢钠溶液和饱和食盐水洗涤,无水硫酸镁干燥,过滤,浓缩,硅胶柱层析纯化(石油醚:乙酸乙酯=2:1),得无色糖浆**52** (0.67g,99%)。

[例3]　乙基2,3,4,6-四-*O*-苯甲酰基-β-D-葡萄吡喃糖基-(1→4)-2,3-*O*-异丙叉基-1-硫-α-L-鼠李吡喃糖苷(**53**)的制备。

氩气保护下,将硫苷受体**52** (116 mg,0.46 mmol)、葡萄糖三氯乙酰亚胺酯给体**51** (450 mg,0.60 mmol)和4Å分子筛(500 mg)溶于无水二氯甲烷(10 mL)。室温搅拌1h后,冷却至-78℃,滴加TMSOTf的二氯甲烷溶液(0.05mol/L,0.92 mL)。继续搅拌0.5h后,加入三乙胺(0.1 mL)淬灭反应。过滤除去分子筛,减压浓缩,硅胶柱柱层析分离(石油醚:乙酸乙酯=4:1),得白色固体**53** (376 mg,97%)。

[例4]　薯蓣苷元基2,3,4,6-四-*O*-苯甲酰基-β-D-葡萄吡喃糖基-(1→4)-2,3-*O*-异丙叉基-α-L-鼠李吡喃糖基-(1→4)-2,3-二-*O*-乙酰基-6-*O*-苯甲酰基-β-D-葡萄糖吡喃糖苷(**55**)的制备。

氩气保护下,将受体**54** (127 mg,0.17 mmol)、二糖硫苷给体**53** (275 mg,0.33 mmol)和4Å分子筛(500 mg)溶于无水二氯甲烷(8 mL)。室温搅拌1h后,冷却至-30℃,加入NIS(90 mg,0.40 mmol),随后加入AgOTf(10 mg,0.04 mmol)。继续搅拌0.5h后,加入三乙胺(0.1 mL)淬灭反应。过滤除去分子筛,减压浓缩,硅胶柱柱层析分离(石油醚:乙酸乙酯=3:1),得白色固体**55** (228 mg,90%)。

参考书目

Lehmann J. Carbohydrates, Structure and Biology. Thieme Stuttgart, 1998

Collins P, Ferrier R. Monosaccharides-Their Chemistry and Their Roles in Natural Products. Chichester: John Wiley & Sons 1995

Allen H J, Kisailus E C et al. Glycoconjugates Composition Structure and Function. NewYork: Marcel Dekker, Inc., 1992

Ikan R et al. Naturally Occurring Glycosides. Chichester: John Wiley & Sons, 1999

吴东儒.糖类的生物化学.北京:高等教育出版社,1987
张惟杰.糖复合物生化技术研究.杭州:浙江大学出版社,1994
陈惠黎.糖复合物的结构和功能.上海:上海医科大学出版社,1997

参 考 文 献

[1] Dwek R A. Chem Rev,1996,96:683
[2] Varki A. Glycobiology,1993,3:97
[3] Lichtenthaler F W. Angew Chem Int Ed Engl,1992,31:1541
[4] Durette P L et al. Adv Carbohydr Chem Biochem,1971,26:49
[5] Leloir L F. Science,1971,172:1299
[6] Kornfeld R et al. Annu Rev Biochem,1985,54:631
[7] Hindsgaul O et al. Bioorg Med Chem,1996,4:1795
[8] Hindsgaul O et al. Science, 2001, 291:1163
[9] Bijvoet J M et al. Nature,1951,168:271
[10] Isbell H S et al. Adv Carbohydr Chem Biochem,1969,24:13
[11] Angyal S J. Adv Carbohydr Chem Biochem,1984,42:15
[12] Angyal S J. Adv Carbohydr Chem Biochem,1991,49:19
[13] Tvaroška I et al. Adv Carbohydr Chem Biochem,1989,47:45
[14] Juaristi E et al. Tetrahedron,1992,48:5019
[15] Lemieux R U et al. Can J Chem, 1969,47:4427
[16] Praly J P et al. Can J Chem,1987,65:213
[17] IUPAC-IUB joint commissionon biochemical nomenclature et al. Pure Appl Chem, 1996,68:1919
[18] IUPAC-IUB joint commissionon biochemical nomenclature et al. Carbohydr. Res,1997,297:1
[19] Cometa F et al. Fitoterapia,1993,195
[20] Jiménc Z. C et al. Nat Prod Rep,1994,591
[21] Marten D A et al. J Chromatogr, 1991,546,297
[22] Vliegelhart J F G et al. Adv Carbohydr Chem Biochem,1983,41:209
[23] Vliegelhart J F G et al. Pure Appl Chem,1981,53:45
[24] Bock K et al. Adv Carbohydr Chem Biochem,1983,41:27
[25] Bock K et al. Adv Carbohydr Chem Biochem,1984,42:193
[26] Venkataraman G et al. Science,1999,286:537
[27] Dell A. Adv Carbohydr Chem Biochem,1987,45:19
[28] Whitehouse C M et al. Anal Chem,1985,57:675
[29] Mock K K et al. Biochem Biophys Res Commun,1991,177:644
[30] 黄琳娟等. 药学学报,1998,33:512
[31] 黄琳娟等. 高等学校化学学报,2001,22:407
[32] Hanessian S. Total Synthesis of Natural Products:The Chiron Approach, Organic Chemistry Series,Pergamon:Oxford,1983,3
[33] Kirschning A et al. Synthesis,2001,507
[34] Toshima K et al. Chem Rev,1993,93:1503
[35] Wulff G et al. Angew Chem Int Ed Engl,1974,13:157
[36] Paulsen H. Angew Chem Int Ed Engl,1982,21:155
[37] Koenigs W et al. Chem Ber,1901,34:957
[38] Lemieux R U et al. J Am Chem Soc,1975,97:4069
[39] Schmidt R R. Angew Chem Int Ed Engl,1986,25:212
[40] Schmidt R R et al. Adv Carbohydr Chem Biochem,1994,50:21
[41] Schmidt R R et al. Angew Chem Int Ed Engl,1980,19:731
[42] Pougny J R et al. Tetrahedron Lett,1976,4073
[43] Pougny J R et al. J Am Chem Soc,1977,99:6762
[44] 俞飙等. Tetrahedron Lett,2001,42:2405
[45] 邓绍江等. J Org Chem,1999,64:202
[46] Garegg P J. Adv Carbohydr Chem Biochem,1995,52:170
[47] Ferrier R J et al. Carbohydr Res,1973,27:55
[48] 卢存福等. Angew Chem Int Ed Engl,1997,36:2345

[49] Shimiu M et al. Synthesis,1998,799
[50] Mukaiyama T et al. Chem Lett,1981,431
[51] Nicolaou K C et al. J Am Chem Soc,1990,112:3693
[52] Danishefsky S J et al. Angew Chem Int Ed Engl,1996,35:1380
[53] Kondo K et al. J Am Chem Soc,1992,115:2260
[54] Hashimoto S I et al. J Chem Soc,Chem Commun,1989,685
[55] Kahne D et al. J Am Chem Soc,1989,111:6881
[56] Crich D et al. J Am Chem Soc,1997,119:11217
[57] Kochetkov N K et al. Carbohydr Res,1971,16:17
[58] Fraser-Reid B et al. Synlett,1992,927
[59] Fraser-Reid B et al. J Chem Soc,Chem Commun,1988,823
[60] Mootoo D R et al. J Am Chem Soc,1988,110:5583
[61] Garcia B A et al. J Am Chem Soc,1997,119:9597
[62] Schelhaas M et al. Angew Chem Int Ed Engl,1996,35:2056
[63] Kocienski P J. Protecting Groups,Georg Tuttgart,1994
[64] Greene T W et al. Protective Groupsin Organic Synthesis,3rd Ed Wiley:New York,1999
[65] 杨尊义等. Carbohydr Res,2000,329:879
[66] 王为等. Angew Chem Int Ed,1999,38:1247
[67] Stork G et al. J Am Chem Soc,1992,114:1087
[68] Barresi F et al. J Am Chem Soc,1991,113:9376
[69] Ito Y et al. Angew Chem Int Ed Engl,1994,33:1765
[70] 俞飙等. Org Lett,2001,3:377
[71] Levy D E et al. The Chemistry of C-glycosides. Tetrhedron Organic Chemistry Series,Vol 13,Pergamon,Oxford,1995
[72] Postema M H D. Tetrahedron,1992,48:8545
[73] Du Y et al. Tetrahedron,1998,54:9913
[74] Wong C H et al. Angew Chem Int Ed Engl,1995,34:412,521
[75] Ichikawa Y et al. J Am Chem Soc,1991,113:4698
[76] Boons G J. Comtemp Org Synth,1996,173
[77] Zhang Z Y et al. J Am Chem Soc,1999,121:734
[78] Nicolaou K C et al. J Am Chem Soc,1984,106:4189
[79] Kanie O et al. J Am Chem Soc,1994,116:1135
[80] Yamada H et al. J Am Chem Soc,1994,116:7919
[81] Boons G J et al. Synlett,1997,809
[82] Zhu T et al. Angew Chem Int Ed,1999,38:3495
[83] 俞飙等. J Am Chem Soc,1999,121:12196
[84] Haase W C et al. Curr Org Chem,2000,4:481
[85] Hilaire St P M et al. Angew Chem Int Ed,2000,39:1162
[86] Nicolaou K C et al. J Am Chem Soc,1997,119:449
[87] Danishefsky S J et al. Science,1993,260:1307
[88] 俞飙等. Tetrahedron Lett,1999,40:8591
[89] 于海等. J Chem Soc,Perkin Trans 1, 2000,1445

（俞　飙）

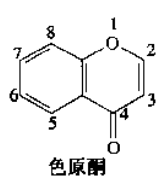
第十三章　黄酮类化合物

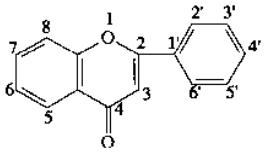
第一节　概　　述

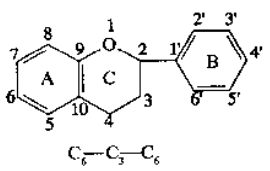
黄酮类化合物(flavonoid)是在植物中分布非常广泛的一类天然产物，其在植物体内大部分与糖结合成苷类，有一部分是以游离态(苷元)的形式存在。绝大多数的植物体内都含有黄酮类化合物，其对植物的生长、发育、开花、结果及防菌防病等方面起着重要的作用。由于最先发现的黄酮类化合物都具有一个酮式羰基结构，又呈黄色或淡黄色，故称黄酮；又因分子中含有的碱性氧原子能与矿酸等结合成盐，故又有黄碱素之称。现在所讲的黄酮类化合物已远远超出这种范围，有的并非黄色，而是白色、橙色及红色等，分子结构也有显著差异，其共同的特征是均含有 $C_6—C_3—C_6$ 基本碳架，即两个苯环通过三个碳原子相互连接而成。由于黄酮类化合物结构相对比较简单，结构测定和全合成研究开展得比较早，故黄酮类化合物是天然产物化学中研究比较成熟的一类物质。同时，黄酮类化合物分布广泛，生理活性多种多样，如槲皮素(quercetin)、芦丁(rutin)、葛根素(puerarin)等具有扩冠活性，牡荆素(vitexin)、汉黄芩素(wogonin)等具有抗肿瘤活性，水飞蓟宾(silybin)、(+)-儿茶素(catechin)等具有保肝作用等，因此引起了人们的广泛研究。目前已有多本黄酮类化合物专著[1-6]问世，较全面系统地介绍了分离到的各个黄酮类化合物。而近十年来，黄酮类化合物的研究已倾向于其药用价值的开发，更多地涉及提取分离工艺的应用研究、黄酮类化合物的含量测定及制剂等，本章将主要侧重于这几方面的探讨，为黄酮类化合物的开发及应用提供一定的参考。

一、黄酮类化合物的结构类型和分类

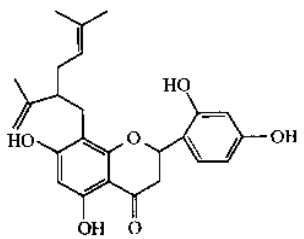
最先黄酮类化合物主要是指基本母核为 2-苯基色原酮(2-phenyl-chromone)的一类化合物，现在则是泛指两个苯环(A 环与 B 环)通过中央三碳相互联结而成的一系列化合物。根据中央三碳的氧化程度、是否成环、B 环的连接位置(2 或 3 位)及两分子黄酮类化合物的结合等特点，可将黄酮类化合物分成黄酮类(flavones)、黄酮醇类(flavonols)、双氢黄酮类(flavanones)、双氢黄酮醇类(flavanonols)、异黄酮类(isoflavones)、双氢异黄酮类(isoflavanones)、查尔酮类(chalcones)、花色素类(anthocyanidins)、双黄酮类(biflavonoids)等，其相应的母体结构见表 13-1。天然黄酮类化合物多为上述化合物的衍生物，其常见的取代基


色原酮


2-苯基色原酮



$C_6—C_3—C_6$


苦参醇 C

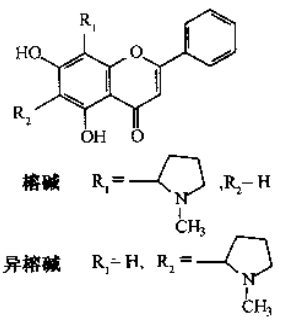
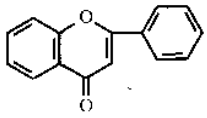
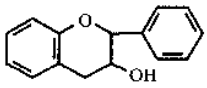
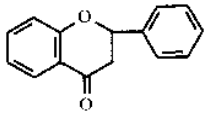
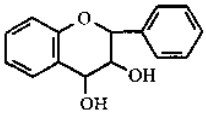
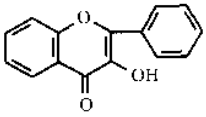
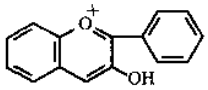
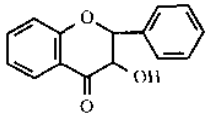
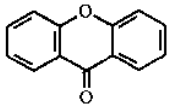
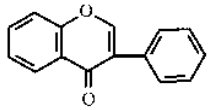
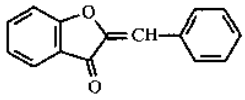
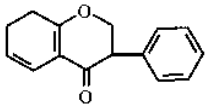
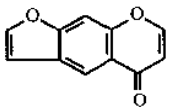
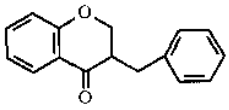
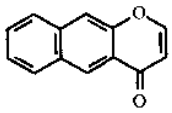
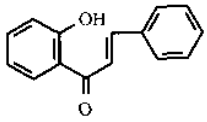
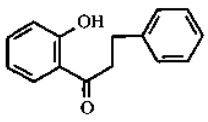


表 13-1　黄酮类化合物的母体结构类型

类型	母体结构	类型	母体结构
黄酮类 (flavone)		黄烷-3-醇类 (flavan-3-ols)	
双氢黄酮类 (flavanone)		黄烷-3,4-二醇类 (flavan-3,4-diols)	
黄酮醇类 (flavonol)		花色素类 (anthocyanidins)	
双氢黄酮醇类 (flavanonol)		呫酮类 (xanthone)	
异黄酮类 (isoflavone)		噢哢类 (aurone)	
双氢异黄酮类 (isoflavanone)		呋喃色原酮类 (furanochromone)	
高异黄酮类 (homoisoflavone)		苯色原酮类 (phenylchromone)	
查尔酮类 (chalcone)		双氢查尔酮类 (dihydrochalcone)	

有—OH、—OCH_3、—OCH_2O—及异戊烯基(如苦参醇 C,kushenol C)等;少数黄酮类化合物结构较为复杂,如水飞蓟宾(silybin)为黄酮木脂体类化合物,榕碱(ficine)及异榕碱(isoficine)则为生物碱型黄酮。天然黄酮类化合物更多的是以苷类的形式存在,而且由于糖的种类、数量、连接位置及连接方式不同,可以组成各种各样的黄酮苷类[7,8]。

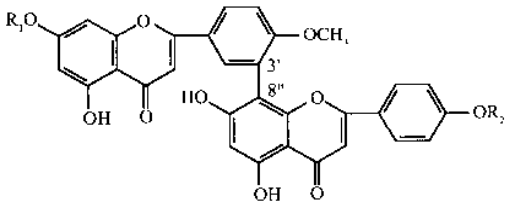
黄酮苷中糖的连接位置与苷元的结构类型有关,如黄酮醇类大多形成 3-,7-,3′-,4′-单糖苷或 3,7-,3,4′-及 7,4′-双糖链苷等。除 *O*-糖苷外,天然黄酮类化合物中还发现有 *C*-糖苷(*C*-glycoside),如葛根素(puerarin)、葛根素木糖苷(puerarin xyloside)等,为中药葛根中的扩冠有效成分[7,8]。

另外,两分子黄酮可以互相聚合而生成双黄酮类化合物。常见的天然双黄酮类化合物由两个分子的芹菜素(apigenin)或其甲醚衍生物聚合而成,根据其结合方式可以分为三类[8]:

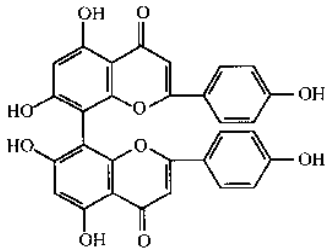
1) 3′,8″-双芹菜素型。例如,从银杏叶中分离得到的银杏素(ginkgetin)、异银杏素(isoginkgetin)和白果素(bilobetin)等双黄酮即属此类型。银杏双黄酮类化合物具有解痉、降压和扩张冠状动脉血管的作用,临床上用于治疗冠心病。

2) 8,8″-双芹菜素型。例如,柏木双黄酮(cupressuflavone)。

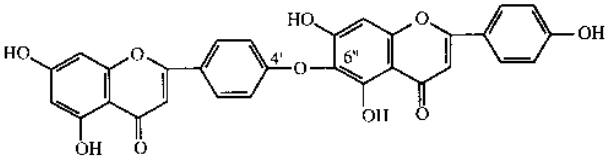
3) 双苯醚型。例如,扁柏双黄酮(hinokiflavone),是由两分子芹菜素通过 $C_{4'}$—O—$C_{6''}$醚键连接而成。



银杏素 $R_1=CH_3$, $R_2=H$
异银杏素 $R_1=H$, $R_2=CH_3$
白果素 $R_1=H$, $R_2=H$



柏木双黄酮



扁柏双黄酮

二、黄酮类化合物的理化性质[7,8]

黄酮类化合物多为结晶性固体,少数为无定形粉末。

黄酮、黄酮醇及其苷类多为灰黄至黄色;查尔酮为黄至橙黄色;双氢黄酮、双氢黄酮醇无交叉共轭体系,一般不显色,但在紫外灯下有特征的颜色或荧光,氨水熏后颜色会发生变化;异黄酮类因共轭较短,显微黄色;花色素所显颜色与 pH 有关,一般显红(pH<7)、紫(pH=8.5)、蓝(pH>8.5)等颜色。

对于黄酮苷元,分子内含有不对称碳原子的双氢黄酮、双氢黄酮醇、黄烷醇、双氢异黄酮及其衍生物,具有旋光性,其余苷元则无旋光性。黄酮苷类因结构中含有糖的分子,故均有旋光性,且多为左旋。

黄酮苷元难溶或不溶于水,易溶于甲醇、氯仿等有机溶剂中;黄酮苷类则易溶于水、甲醇等强极性溶剂,难溶或不溶于苯、氯仿等有机溶剂。由于黄酮类化合物多数均含有酚羟基,故显酸性,可溶于碱性水溶液(如碳酸钠水溶液)、碱性有机溶剂(如吡啶、甲酰胺、二甲基甲酰胺);黄酮类化合物的吡喃酮环上的 1-位氧原子,因有未共用电子对,故表现微弱的碱性,可与强酸如浓硫酸、盐酸等成盐,但极不稳定,加水后即分解。

黄酮类化合物可与镁粉(或锌粉)、盐酸、四氢硼钠(钾)、三氯化铝、氢氧化钠等试剂产生特征性的颜色反应,用于黄酮类化合物的鉴别。

三、黄酮类化合物在植物中的分布[8]

黄酮类化合物在植物体内的形成,是由葡萄糖分别经莽草酸途径和乙酸-丙二酸途径生成羟基桂皮酸和三分子乙酸,然后合成查尔酮类(chalcone),再衍变为各类黄酮化合物。查尔酮类与(-)双氢黄酮类(flavanone)可以互相转化,两者可以衍变为双氢黄酮醇类(flavanonol)、异黄酮类(isoflavone)、噢哢类(aurone)、双氢查尔酮类(dihydrochalcone)等,其中双氢黄酮醇类可以进一步衍变为黄酮醇类(flavonol)、花色素类(anthocyanidin)、(+)-茶素类[(+)-catechins]及(-)-表儿茶素类[(-)-epicatechin]等,异黄酮类可以进一步衍变为紫檀素类(pterocarpine)和鱼藤酮类(rotenone)等,其生源关系如图 13-1 所示。

不同类型的黄酮化合物,常常相对集中地分布在某些科属中。

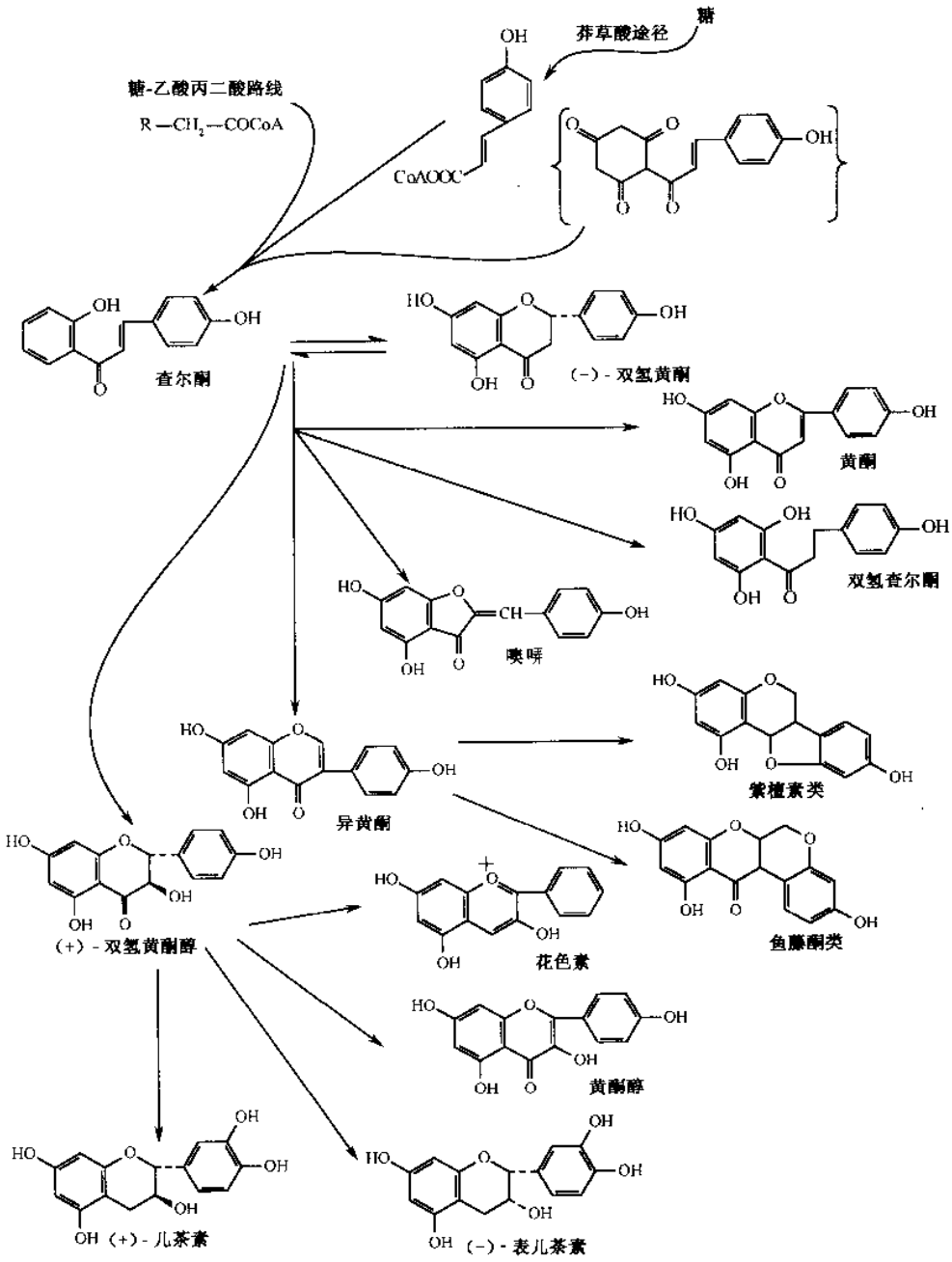


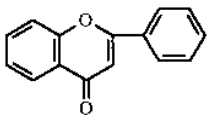
图 13-1　黄酮类化合物生源关系

1．黄酮类及双氢黄酮类

黄酮类广泛分布于被子植物中，以芸香科、菊科、玄参科、唇形科、伞形科、爵麻科、苦苣苔科及豆科等植物中存在较多，6-羟基黄酮多存在于草本植物中，而 8-羟基黄酮则多存在于木本植物中。该类化合物中以芹菜素(apigenin)和木犀草素(luteolin)最为常见。天然黄酮类化合物 A 环的 5，7-位几乎同时带有羟基，而 B 环常在 4′-位有羟基或甲氧基，3′-位有时也有羟基或甲氧基。黄酮苷类一般多是黄酮苷元的 7-羟基葡萄糖

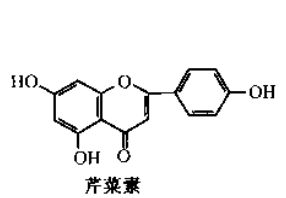
苷或鼠李糖苷。常见的一些黄酮类化合物及其分布见表 13-2。

表 13-2 常见的一些黄酮类化合物及其分布

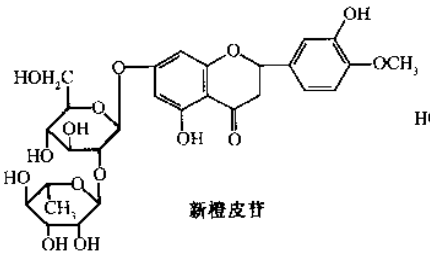


名称	结构	分布
芹菜素(apigenin)	5,7,4′-三 OH	芫花
芹菜苷(apiin)	芹菜素-7-*O*-芹糖	芹菜
刺槐素(acacetin)	5,7-二 OH,4′-OCH_3	槐叶、密蒙花
刺槐苷(acaciin)	刺槐素-7-*O*-葡萄糖-*O*-鼠李糖	菊花
木犀草素(luteolin)	5,7,3′,4′-四 OH	金银花、忍冬藤
忍冬苷(loniccrin)	木犀草素-7-*O*-新陈皮糖	忍冬叶、酸橙幼果
忍冬素(loniceraflavone)	5,6,4′-三 OH	忍冬叶、金银花叶
黄芩素(baicalein)	5,6,7-三 OH	黄芩
黄芩苷(baicalin)	黄芩素-7-*O*-葡萄糖醛酸	黄芩
汉黄芩素(wogonin)	5,7-二 OH,8- OCH_3	黄芩
汉黄芩苷(wogonoside)	汉黄芩素-7-*O*-葡萄糖醛酸	黄芩
芫花素(genkwanin)	5,4′-二 OH,7-OCH_3	芫花
川陈皮素(nobiletin)	5,6,7,8,3′,4′-六 OCH_3	橘皮
高车前苷(homoplantaginin)	5,4′-二 OH,6-OCH_3,7-*O*-葡萄糖	车前草、荔枝草
南蛇苷(wikstroemin)	4′-OH,7-OCH_3,5-*O*-(葡萄糖)$_2$	广哥七
柳穿鱼苷(pectolinarin)	5-OH,6,4′-二 OCH_3,7-*O*-芸香糖	大蓟

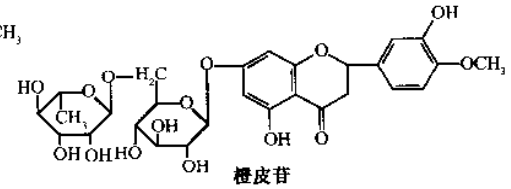
双氢黄酮类分布较普遍,尤其是在被子植物的蔷薇科、芸香科、菊科、姜科、杜鹃花科、豆科中分布较多。紫花杜鹃甲素(matteucinol),存在于紫花杜鹃和红花杜鹃中,具有止咳作用;陈皮中的橙皮苷(hesperidin)及新橙皮苷(neohesperidin)具有维持血管的正常渗透压、减低血管的脆性及缩短流血时间的作用,临床上常作为治疗高血压的辅助药和止血药;甘草中的甘草苷(liquiritin)及其苷元甘草素(liquiritigenin)对消化性溃疡有抑制作用。



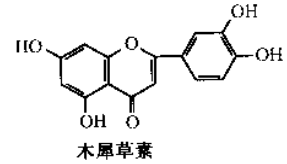
芹菜素



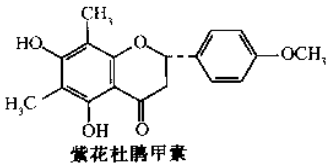
新橙皮苷



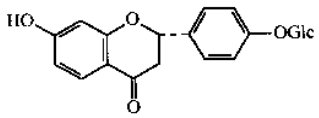
橙皮苷



木犀草素



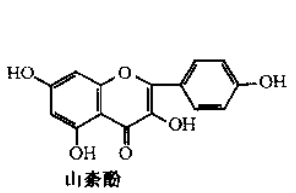
紫花杜鹃甲素



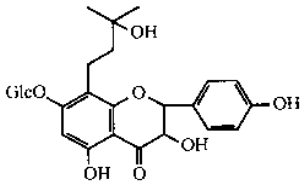
甘草苷

2．黄酮醇类及双氢黄酮醇类

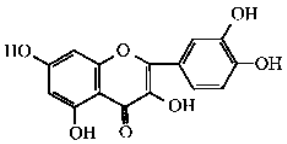
黄酮醇类较广泛分布于双子叶植物，特别是一些木本植物的花和叶中。该类化合物以山柰酚(kaempferol)和槲皮素(quercetin)最为常见。一些常见的天然黄酮醇类化合物见表13-3。双氢黄酮醇类存在于裸子植物、单子叶植物姜科的少数植物中，双子叶植物中分布较普遍，在豆科、蔷薇科植物中也较多。例如，黄柏中的黄柏苷(phellamurin)具有一定抗癌活性；水飞蓟中的水飞蓟宾(silybin)具有较强的保肝作用，临床用于治疗急性肝炎、慢性肝炎、肝硬化及代谢中毒性肝损伤，效果较好。



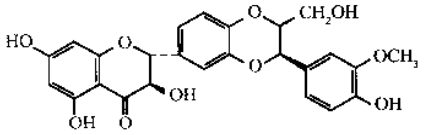
山柰酚



黄柏苷

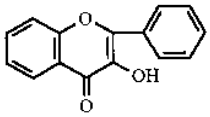


槲皮素



水飞蓟宾

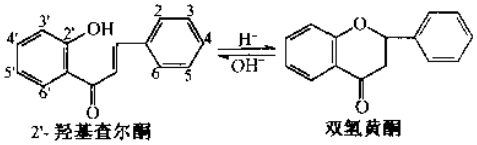
表13-3　常见的一些黄酮醇类化合物的分布



名称	结构	分布
槲皮素(quercetin)	3,5,7,3′,4′-五OH	槐花米、紫菀、银杏等
芦丁(rutin)	槲皮素-3-*O*-芸香糖	荞麦叶、桑椹子
异槲皮苷(isoquercitrin)	槲皮素-3-*O*-葡萄糖	问荆、棉叶
金丝桃苷(hyperin)	槲皮素-3-*O*-*β*-半乳糖	贯叶连翘、满山红叶
异金丝桃苷(isohyperin)	槲皮素-3-*O*-*α*-半乳糖	满山红叶
山柰酚(kaempferol)	3,5,7,4′-四OH	银杏叶、高良姜
问荆苷(equisetrin)	山柰酚-7-*O*-(葡萄糖)$_2$	问荆
杨梅素(myricetin)	3,5,7,3′,4′,5′-六OH	满山红叶
鼠李素(rhamnetin)	3,5,3′,4′-四OH,7-OCH_3	鼠李子
异鼠李素(isorhamnetin)	3,5,7,4′-四OH,3′-OCH_3	银杏叶、高良姜
桑色素(morin)	3,5,7,2′,4′-五OH	桑枝
高良姜素(galangin)	3,5,7-三OH	高良姜
蜡梅苷(meratin)	槲皮素-3-*O*-(葡萄糖)$_2$	蜡梅花
人参黄酮苷(panasenoside)	山柰酚-3-*O*-半乳糖-*O*-葡萄糖	人参

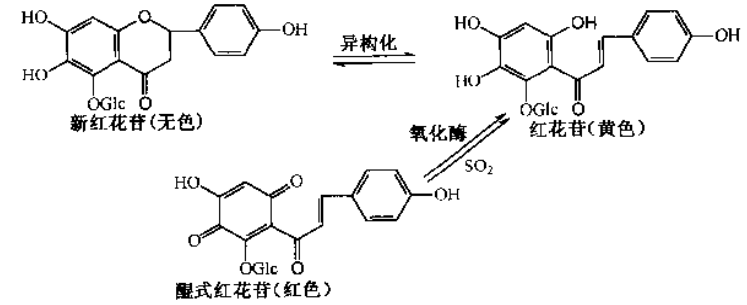
3. 查尔酮类及双氢查尔酮类

查尔酮类大多分布在菊科、豆科、苦苣苔科植物中，在玄参科、败酱科植物中也有发现。查尔酮为苯甲醛缩苯乙酮类化合物，其定位与其他黄酮类化合物不同，2′-羟基查尔酮（深黄色）与双氢黄酮（无色）为互变异构体，在酸或碱的作用下，两者可以互相转化。如红花中含红花苷、新红花苷和醌式红花苷，在红花开花初期，因花中主要含无色的新红花苷及微量的红花苷，故花冠呈淡黄色，开花中期因花中主要含的是红花苷，故花冠为深黄色，开花后期则氧化成红色的醌式红花苷，故花冠成红色。

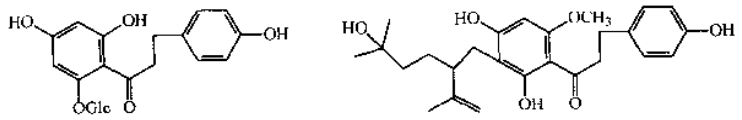


2′-羟基查尔酮　　双氢黄酮

双氢查尔酮类在植物界分布极少。如蔷薇科梨属植物根皮和苹果种仁中含有的梨根苷，苦参中含有的次苦参醇素即为双氢查尔酮类化合物。

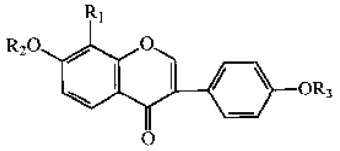


新红花苷（无色）　红花苷（黄色）　醌式红花苷（红色）


梨根苷　　次苦参醇素

4. 异黄酮类及双氢异黄酮类

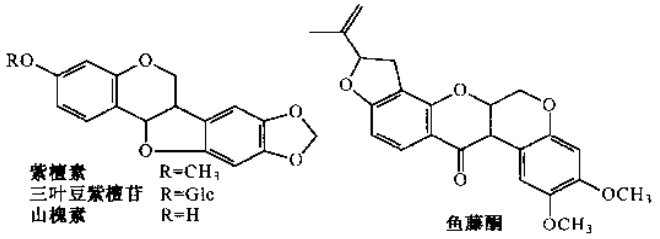
异黄酮类主要分布在被子植物中，如豆科植物中（约占 70%），其余分布在鸢尾科、桑科植物中。豆科植物葛根中所含的大豆素（daidzein）、大豆苷（daidzin）、大豆素-7,4′-二葡萄糖苷（daidzein-7,4′-diglu coside）、葛根素（puerarin）和 7-木糖-葛根素（7-*O*-xylosyl puerarin）等均属于异黄酮类化合物。葛根总黄酮具有增加冠状动脉血流量及降低心肌耗氧量等作用。大豆素具有类似罂粟碱（papaverine）的解痉作用。大豆苷、葛根素及大豆素均能缓解高血压患者的头痛等症状。



大豆素　$R_1=R_2=R_3=H$
大豆苷　$R_1=R_3=H, R_2=Glc$
葛根素　$R_2=R_3=H, R_1=Glc$
大豆素-7,4′-二葡萄糖苷　$R_1=H, R_2=R_3=Glc$
7-木糖-葛根素　$R_1=Glc, R_2=Xyl, R_3=H$

中药山豆根中所含有的紫檀素（pterocarpin）、三叶豆紫檀苷（trifolirhizin）和山槐素（maackiain）是双氢异黄酮的衍生物，均有抗癌活性，且苷类的活性强于苷元。毛鱼藤为我国南方广泛栽种的植物，其中所含有的鱼藤酮（rotenone）等也属于双氢异黄酮的衍生物。鱼藤酮具有较强的杀虫和毒鱼作用，当水中鱼藤酮的浓度为 1∶13 000 000 时，已足使鱼昏迷死亡；其对蚜虫的毒性较烟碱大 10～15 倍，对苍蝇的毒性比除虫菊强 6

倍，且对人畜无害，可用作农药杀虫剂。

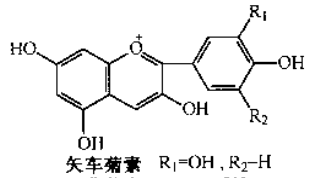


紫檀素　R=CH3
三叶豆紫檀苷　R=Glc
山槐素　R=H

鱼藤酮

5. 花色素类

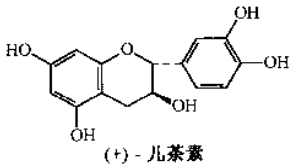
花色素类是使植物的花、果、叶、茎等呈现蓝、紫、红等颜色的化学成分，广泛地分布于被子植物中，其中以矢车菊素(cyanidin)、飞燕草素(delphinidin)、天竺葵素(pelargonidin)、锦葵花素(malvidin)及其苷类最为常见。花色苷类一般用20%盐酸煮沸3 min即水解生成苷元和糖类。糖和苷元的结合位置常在3-位羟基上，有时也可能在5-位羟基上，其中以3,5-二葡萄糖苷类在自然界的分布最广。近年来，由于山楂花色素类的药理作用被发现后，花色苷的药理作用也开始被注意。山楂提取物具有增加冠脉流量、降低胆固醇、中枢神经镇静等作用，其有效成分主要为黄酮及三萜类成分；山楂中的花色苷对心脏起动阶段有强壮作用。



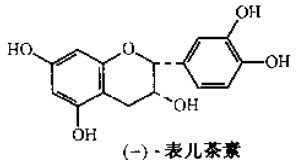
矢车菊素　R_1=OH，R_2-H
飞燕草素　R_1=R_2-OH
天竺葵素　R_1-R_2-H
锦葵花素　R_1-R_2-OCH_3

6. 黄烷醇类

黄烷-3-醇的衍生物称为儿茶素类(catechin)，在植物中分布较广，主要存在于含鞣质的木本植物中。儿茶素为中药儿茶的主要成分，具有一定的抗癌活性，其共有4个光学异构体，但在植物中存在的主要异构体为(+)-儿茶素[(+)-catechin]和(-)-表儿茶素[(-)-epicatechin]。金荞麦中的双聚原矢车菊苷元是黄烷-3-醇的双聚物，具有抗炎、祛痰、解热、抑制血小板聚集及提高机体免疫力的作用，临床用于治疗肺脓肿及其他感染性疾病。麻黄根中的麻黄灵A(mahuannin A)和麻黄灵B(mahuannin B)也是黄烷-3-醇的双聚物，两者的差别仅C_2、C_3、C_4位构型不同，均具有抗癌活性。



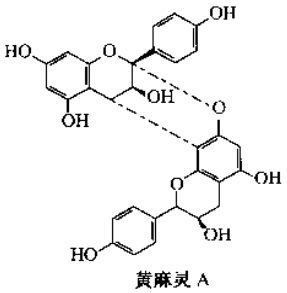
(+)-儿茶素



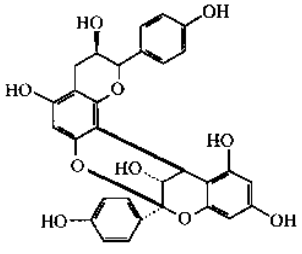
(-)-表儿茶素



双聚原矢车菊苷元

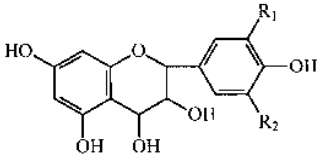


黄麻灵A



黄麻灵B

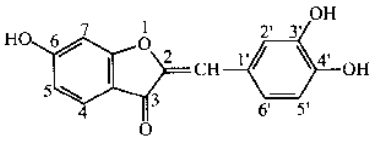
黄烷-3,4-二醇衍生物称为无色花色素类(leucoanthocyanidin),如无色矢车菊素(leucocyanidin)、无色飞燕草素(leucodelphinidin)和无色天竺葵素(leucopelargonidin)等。该类成分在植物界分布也很广,其中在含鞣质的木本植物和蕨类植物中存在较多。该类化合物常以分子聚合而具有鞣质的性质。



无色矢车菊素 R_1=OH, R_2=H
无色飞燕草素 R_1=R_2=OH
无色天竺葵素 R_1=R_2=H

7. 噢哚类

噢哚类定位与其他黄酮类化合物不同。中药中噢哚类比较少见,较多存在于玄参科、菊科、苦苣苔科以及单子叶植物沙草科中。例如,在黄花波斯菊花中含有的硫黄菊素(sulfuretin)即为噢哚类化合物。



硫黄菊素

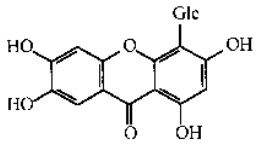
8. 双黄酮类

双黄酮类较集中分布于除松科以外的裸子植物中,如银杏科、松科、杉科;蕨类植物中的卷柏属植物中也有分布。

9. 其他黄酮类

(1) 呫酮类

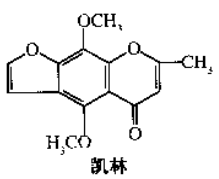
呫酮又称苯骈色原酮,为一种特殊类型的黄酮类化合物。常存在于龙胆科、藤黄科植物中,在百合科植物中也有分布。如异芒果苷(isomangiferin)存在于石韦、芒果叶和知母叶中,具有止咳祛痰的作用。



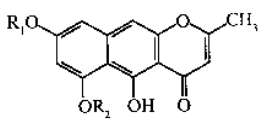
异芒果苷

(2) 呋喃色原酮类和苯色原酮类

在植物界中分布较少,如自凯刺种子和果实中得到的凯林(khellin)等属于呋喃色原酮类化合物。凯林为最早发现的一种扩张冠状动脉血管的黄酮类化合物药物,但作用较弱。中药决明子中含有红镰玫素(rubrofusarin)、去甲红镰玫素(norrubrofusarin)、红镰玫素-6-β-龙胆二糖苷(rubrofusarin-6-β-gentiobio-side)为苯色原酮类化合物。



凯林



红镰玫素 R_1=CH_3, R_2=H
去甲甲红镰玫素 R_1=R_2=H
红镰玫素-6-β-龙胆二糖苷 R_1=CH_3, R_2=β-gentiosyl

第二节　黄酮类化合物的提取分离

黄酮类化合物的提取分离，从其过程来说，可分为两个阶段：第一阶段是提取，主要考虑提取溶剂的选择问题，这和植物所含的黄酮类化合物是苷元还是苷类有关，也和原料是植物的哪一部位有关；第二阶段是分离，目的是将黄酮类化合物与其他非黄酮类成分分开，在需要的时候还要将各黄酮类成分相互分离加以纯化。但在实际操作中，这两个阶段是相互关联的，通常不能明确划分。

1．提取

由于黄酮类化合物在溶剂中的溶解性能相差甚大，没有一种能适合于所有黄酮类成分的提取溶剂，而必须根据目标成分的性质及杂质的类别来选择溶剂，一般原则是非极性溶剂（如乙醚、苯、乙酸乙酯、氯仿等）适用于大多数的苷元及其高度甲基化的衍生物，如多甲氧基黄酮类苷元可用苯来提取。极性溶剂（如乙酸乙酯、丙酮、乙醇、水、甲醇等）及其混合溶剂（如1:1的甲醇-水溶液）则主要适用于各种黄酮苷类和极性稍大的苷元（如羟基黄酮、双黄酮类、查尔酮等），一些多糖苷类可用热水提取，而且在各种苷类的提取中要事先破坏酶的活性。同时在选择溶剂时，要考虑到原料中伴存的杂质，对于非极性杂质（如油脂、叶绿素、甾体等）可用石油醚预先除去，而水溶性杂质则可用乙酸乙酯或丁醇抽提的方法，或者用铅盐沉淀法等除去[8]。常用的提取方法有以下几种：

1）热水提取法。热水提取法常用于各种黄酮苷的提取，提取时常将原料投入沸水以破坏酶的活性，如自槐花米中提取芦丁；该法还可用于黄烷醇、黄烷二醇、原花色素等极性较大的苷元的提取；在提取过程中要考虑加水量、浸泡时间、煎煮时间及次数等[8]。虽然热水提取出的杂质较多，但该法工艺成本低，安全，适合于工业化大生产，如淫羊藿总黄酮的提取，采用正交实验对其提取工艺进行了多因素研究，得出适合大生产的最佳工艺参数为加20倍水、浸泡1.5h、煎煮2次、每次煎煮1h[10]。

2）乙醇或甲醇提取法。乙醇或甲醇是最常用的黄酮类化合物提取溶剂，高浓度的醇（如90%～95%）适用于提取苷元，60%左右的醇适用于提取苷类。提取的次数一般是2～4次，可用渗漉法、回流法和冷浸法[8]。冷浸法不需加热，但提取时间长，效率低；渗漉法因保持一定的浓度差，提取效率较高，浸出液杂质少，但费时较长，溶剂用量大，操作麻烦；回流法效率较前两者高，但成分受热易破坏的药材不宜用该方法[10]。例如，广枣总黄酮的提取工艺为8倍量的70%乙醇回流提取1h，共提取2次，其总黄酮的得率可达90%以上；临床上多配方用或制成注射液、片剂等，用于气滞血淤，胸痹作痛，心悸气短，心神不安等病症[9]。陈皮苷的提取用乙醇渗漉法，其最佳工艺为10倍量的50%或60%的乙醇[10]。

3）系统溶剂提取法。用极性由小到大的溶剂依次提取，如先用石油醚或己烷脱脂，接着用苯提取多甲氧基黄酮或含异戊烯基、甲基的黄酮，再用乙醚、氯仿、乙酸乙酯依次提取出大多数的苷元，然后用丙酮、乙醇、甲醇、甲醇-水（1:1）提取出多羟基黄酮、双黄酮、查尔酮等成分，最后用稀醇、沸水可以提取出苷类，而花色素等成分可用1% HCl提取出来[8]。

4）碱性水或碱性稀醇提取法。由于黄酮类成分大多具有酚羟基，故可用碱性水溶液（如碳酸钠、氢氧化钠、氢氧化钙水溶液）或碱性稀醇（如50%的乙醇）提取，提取液经酸化后可析出黄酮类化合物。该法提取效果通常不是很好，杂质也较多，而且要注意碱浓度不宜过高，以免加热时强碱会破坏黄酮类化合物的母核，如从槐米中提取芦丁[8,10]。

2．分离

黄酮类化合物的分离包括黄酮类化合物与非黄酮类化合物的分离，以及黄酮类化合物之间的单体分离。常用的分离方法有溶剂萃取法（如银杏黄酮的制备）、碱提酸沉法、聚酰胺柱层析法、硅胶柱层析法、铅盐法、硼酸络合法、pH梯度萃取法、凝胶柱层析法等，在黄酮类化合物的分离纯化中得到了广泛的应用[8,10]。

随着现代科学技术的发展，在中草药提取分离方面已有十分广泛深入的研究，各种新的提取分离技术不断被应用到中草药的研究和生产领域，一些新的提取分离技术应用于天然产物的研究和生产也取得了很好的效果，如超声提取法（UE）、超临界流体萃取法（SCFE）、超滤法（UF）、双水相萃取法（ATPE）、大孔吸附树

脂柱层析(MARC)、酶法提取(EE)、高速逆流色谱法(HSCCC)、高效液相色谱法(HPLC)、分子蒸馏技术(molecular distillation,MD)等技术的应用已得到了广泛的关注及研究。

一、新的提取分离技术

1. 超声提取法

超声提取技术(ultrasonic extraction,UE)是近年来应用到中草药有效成分提取分离中的一种方法,其原理是利用超声波的空化作用加速植物有效成分的浸出提取。另外,超声波的次级效应(如机械振动、乳化、扩散、击碎、化学效应等)也能加速目标成分的扩散释放并充分与溶剂混合,利于提取。与常规提取方法(如煎煮法、回流法、渗漉法等)相比,超声波提取法具有设备简单,操作方便,提取时间短,产率高,无需加热有利于保护热不稳定成分等优点[11]。目前超声提取法已用于黄酮类化合物的质量分析和少量提取中,但较少用于大规模生产,有待于进一步研究探讨。例如,郭孝武等从黄芩中提取黄芩苷(baicalin),用超声提取法提取 10 min 比煎煮法提取 3h 的提取率还高[12];王昌利等应用超声技术对芦丁的提取工艺进行了系统的研究,结果表明超声提取工艺具有省时、节能、提取率高等优点,可作为实验室及大规模生产的模拟工艺[13]。

2. 超滤法

超滤法(ultrafiltration,UF)是一种膜分离技术的代表,控制超滤膜孔径大小可以有效去除提取液中的大分子物质,其原理是利用多孔的半透膜,凭借一定的压力,对液体进行分离,迫使小分子物质通过而大分子物质被截留,从而达到分离、提纯、浓缩的目的。该方法具有分离过程无相变化、低能耗、有效膜面积大、分离效率高、可在常温低压下进行等优点。例如,王世苓等利用超滤法一次提取黄芩苷,产率和纯度均高于常规方法[14]。

3. 大孔吸附树脂柱层析

大孔吸附树脂柱层析(macroporous adsorption resin chromatography,MARC)于 20 世纪 70 年代末逐步应用到中草药有效成分的提取分离。大孔树脂的常用型号有 HP-30、S-861、D-101、DA-201、GDX-105、MD-05271、CAD-40、XAD-4、XAD-16 等,其特点是吸附容量大、再生简单,效果可靠,尤其适用于黄酮类、皂苷类等成分的分离纯化及其大规模生产[10,15]。如用于银杏总黄酮的提取分离,很有应用前景[16]。

4. 双水相萃取技术

将两种不同的水溶性聚合物的水溶液混合时,当聚合物浓度达到一定值,体系会自然地分成互不相溶的两相,这就是双水相体系。双水相体系萃取分离技术的原理是物质在双水相体系中的选择性分配。不同的物质在特定的体系中有着不同的分配系数,当物质进入双水相体系后,在上相和下相间进行选择性分配,从而达到提取分离的目的。常用的双水相体系有高聚物体系(如 PEG-Dextran 体系)和高聚体-无机盐体系(如 PEG-硫酸盐或磷酸盐体系)。

双水相萃取技术(aqueous two phase extraction,ATPE)具有操作时间较短,操作方便、条件温和,易于工程放大和连续操作、处理量可以较大等优点,虽然有关采用双水相萃取技术从中草药中提取分离黄酮类成分的文献报道不是很多,但已有的实例已充分表明了其良好的应用前景[17,18]。例如,Mishima[19] 等用 PEG6000-K_2HPO_4-水的双水相系统对黄芩苷(baicalin)和黄芩素(baicalein)进行分配实验,由于黄芩苷和黄芩素都有一定的憎水性,被主要分配在富含 PEG 的上相,且分配系数 K 随结线长度增加近似表示为 $\ln K$-TLL 的线性关系。两种物质的 K 最大可达到 30 和 35,分配系数随温度升高而降低,且黄芩苷的降幅比黄芩素大。他们采用适当的理论模型对实验数据进行关联,得到比较满意的结果。若能通过一定的手段去掉溶液中的 PEG,则经浓缩结晶后可得到黄芩苷和黄芩素产品。

5. 超临界流体萃取法

超临界流体萃取(supercritical fluid extraction,SFE)是利用超临界流体对中草药有效成分进行提取分离

的新型技术，其原理是利用某种流体在临界点附近一定区域内具有溶解能力强、流动性好、传递性能高的特点来提取分离中草药中的目标成分。常用的超临界流体是 CO_2，因 CO_2 无毒，不易燃易爆，价廉，具有较温和的临界条件（$T_c=31℃$，$p_c=7.48\times10^6Pa$），易于从提取液中分离出来。与传统提取分离方法相比，超临界流体萃取法具有产品纯度高、收率高，有效成分破坏少，操作简单、节能等优点，还可以通过控制临界温度和压力的变化达到选择性提取和分离纯化的目的。利用该法提取分离中草药成分已引起相关学者的关注，并进行了广泛深入地研究，探讨了不少中草药的超临界流体萃取工艺，正逐步推广应用到生产中去。虽然采用超临界流体萃取法提取分离黄酮类化合物的报道很少，但已有的研究报道显示了广阔的应用前景，值得有关学者深入研究探讨。例如，邓启焕[20]等利用混合超临界流体对银杏叶的有效成分进行提取分离工艺的研究，结果表明萃取得率高，操作时间短，银杏黄酮含量高；刘志敏[21]等利用超临界流体萃取法对六种黄酮及黄酮苷类化合物进行分离研究。

6．酶法提取

20 世纪 50 年代中期，自然科学中多学科的相互交叉及渗透使酶化学得以迅速发展。人们通过对酶的结构化学——氨基酸排列结构，酶的生物催化活性的本质及酶专一性等的研究，使生物酶的应用逐步发展成为化学工业制药等的重要手段之一。当前，酶工业发展迅速，酶应用也日趋广泛[22]。

中药提取物中的杂质大多为淀粉、果胶、蛋白质等，可选用相应的酶予以分解除去。如针对根中含有脂溶性、难溶于水或不溶于水成分多，通过加入淀粉部分水解产物及葡萄糖苷酶或转糖苷酶，使脂溶性、难溶于水或不溶于水的目标成分转移到水溶性苷糖中[23]；纤维素酶能够水解葡萄糖苷的 β-1,4 苷键以破坏植物细胞壁，可用于以纤维素为主的中药材提取，如用细胞分离酶与纤维素酶并用的酶液（0.6%）对茶叶进行提取，加 5～7 倍水，40℃（pH＝5～6），2～5h 提取得到色香味齐全，得率高出对照组 3 倍的茶叶浸膏；其他如花青素酶、葡萄糖氧化酶也可应用于中药材的提取[22]，如邢秀云等[24]报道将纤维素酶用于葛根总黄酮的提取。其工艺流程如下：将葛根药材饮片粉碎约 1 cm，用 3 倍量水浸泡，用盐酸调 pH＝4，加 0.5%纤维素酶搅拌，置 40℃恒温水浴内保温 1.5h；酶解液用 5 倍量 95%乙醇回流提取 1h，过滤，残渣加 5 倍量 60%乙醇回流提取 0.5h，过滤，合并两次滤液，回收乙醇至适当浓度，离心、取上清液，用正丁醇萃取 3 次，浓缩至干即得葛根总黄酮。以 UV 法测定总黄酮含量，比较加酶与不加酶提取葛根总黄酮的收率，结果表明用纤维素酶提取葛根总黄酮的收率提高了 13%左右，效果很好。日本专利[10]用酶法（enzymic extraction，EE）提取银杏中的黄酮类化合物，有效成分提取效率高。

7．高效液相色谱法

采用纸色谱法、柱色谱法及薄层色谱法等分离黄酮类化合物，其分离效果并不很理想；采用气相色谱法需要将样品衍生化（如硅烷化），其使用有限制。而高效液相色谱法（high-performance liquid chromatography，HPLC）的分离效果则较理想，王慕邹[25]、王明龙等[26]与郑玉果等[27]对此曾做过系统地综述，介绍如下：

1）固定相的选择。正相系统的固定相有硅胶柱和氨基柱；反向系统的固定相有 C_{18}柱、C_8 柱、苯基柱、氨基柱及 C_2 柱等。硅胶柱主要适用于分离非极性或弱极性黄酮类化合物，如多甲氧基黄酮、异黄酮及双黄酮等；具有羟基的黄酮苷元及黄酮苷不宜在硅胶柱上直接分离，可乙酰化后再用硅胶柱分离。烷基键合相柱对黄酮苷元及其黄酮苷的分离效果很好，常用的烷基键合相为十八烷基硅烷（C_{18}）、辛基硅烷（C_8）和苯基硅烷（Ph），而且大多数均采用反相 C_{18}柱（RP-C_{18}），但有研究表明 RP-C_8 柱系统对分离含广泛黄酮类成分的混合物比 RP-C_{18}柱系统更为理想。氨基键合相柱可以用于分离极性较大的多羟基黄酮苷。填料粒径的大小对分离黄酮类化合物的能力有影响，一般是 10 μm＞5 μm＞3 μm，其中以 5 μm 用得最多，其次为 10 μm。聚酰胺吸附剂广泛用于柱层析及薄层层析中，但在高效液相层析中用得不多，Collet 等在自制聚酰胺固定相上，以甲醇-水（60∶40）作为流动相，分离了一些双氢黄酮及色原酮化合物。

2）流动相的选择。一般多采用甲醇-水或乙腈-水系统作为流动相，并加入少量的酸。加酸可以改善分离效果，防止拖尾，加酸的量或 pH 取决于色谱柱的稳定性，最常用的为乙酸，也可以用磷酸、甲酸及磷酸二氢钾等来调节流动相的 pH。其他流动相系统有四氢呋喃-水、乙醇-乙酸-水、叔丁醇-水、四氢呋喃-乙腈-水、丙酮-乙酸-水、氯仿-乙腈、正己烷-乙醇-乙酸及苯-丙酮等。

黄酮类化合物大多具有紫外吸收，黄酮、黄酮醇等及其苷类常用的检测波长为 254～280 nm 和 340～360 nm，花色素及其苷类为 520～540 nm，色原酮为 250 nm。异黄酮则多采用电流测定法及光电二极管分光光度计检测。不同的黄酮类化合物，其保留时间也有差异，如对于黄酮苷元，其在 C_{18} 键合相柱上的保留能力随羟基数目的增多而减弱，在具体应用时是要加以考虑的。

虽然 HPLC 的分离效果较理想，但考虑到其分离成本相对较高，HPLC 更多的是用于黄酮类化合物的定性检测、定量分析或少量样品的制备等。

8．其他

其他还有 HSCCC、MD、微波萃取(microwave extraction，ME)、半仿生提取等新型提取分离技术[28,29]，其在中草药化学成分的提取分离方面都有一定的应用前景，但这些技术应用于黄酮类成分提取分离的研究报道较少，还有待于相关学者进一步的深入进行研究和探讨。

二、提取分离实例

以下主要介绍一些黄酮类成分提取分离工艺，为有关的研究人员提供一定的参考。

1．银杏黄酮的提取分离

银杏总黄酮是银杏提取物(EGb)中的主要有效成分，其主要含有黄酮苷类、双黄酮苷元、黄酮苷元等多种黄酮类成分。银杏叶加 95%乙醇回流提取 3 次，合并提取液，过滤，滤液浓缩得浸膏，浸膏悬浮于 20%乙醇中使总黄酮溶解，过滤，滤液回收至干即得银杏总黄酮。或者银杏叶用甲醇回流提取，提取液回收甲醇，浓缩液加水后用氯仿萃取。取水层，用乙酸乙酯萃取，萃取液浓缩后上硅胶柱层析，用甲醇-水(2:3)洗脱，洗脱液回收溶剂即得银杏总黄酮[8]。

目前大孔吸附树脂柱层析(MARC)已较多地用于银杏总黄酮的提取分离，如 Ichimaru 制药公司采用聚丙烯树脂 Amberlite XAD-7 制备 EGb，用于保健品、化妆品和药品等，其基本生产工艺为生药以 10 倍量甲醇提取，过滤浓缩，浓缩液加水混悬，混悬液以氯仿萃取除去叶绿素及其他脂溶性成分，溶液过 Amberlite XAD-7 柱，银杏叶的主要有效成分即吸附于柱上，先用 10%甲醇水溶液淋洗，再用 70%甲醇洗脱，洗脱液浓缩至干得粉末，得率为 1%，黄酮苷含量约 30%；Tama 生化公司和 Daicel 化学工业公司采用大孔树脂 Diaion HP-10 提取银杏叶有效成分，其生产工艺为 1kg 银杏叶干粉以 12L 水于 80～90℃提取，水提液调节 pH=8.5，过 Diaion HP-10 大孔树脂吸附柱，以水洗后用乙醇洗脱，喷雾干燥，得 35g 黄酮，含量大于 15%；萧顺昌等将银杏叶适当粉碎，以沸水提取 3 次，浸提液以 D-101 树脂吸附，先以水洗再用乙醇洗脱，洗脱液浓缩干燥得 EGb，得率 1.2%～1.5%，黄酮总含量约为 38%[16]。熊远福等[30]利用醇浸提-硅藻土吸附-树脂分离法，从银杏中提取精制有效药用成分银杏总黄酮，产品收率可达到 2.25%，其中总黄酮含量高于 28.8%，二萜内酯 6%，质量符合出口标准，而且优化了工艺条件。

邓启焕等[20]研究报道利用超临界流体萃取技术(SCFE)提取分离银杏总黄酮也有相当的应用前景。研究表明 SCF-CO_2 对低相对分子质量低极性的亲脂性化合物(如醚、醛、酯、内酯等)表现出优异的溶解性能，而对大多数极性较强的物质(如氨基酸、糖等)则几乎不溶，强极性官能团(如—OH、—COOH)的引入也会使化合物溶解度降低，故多元醇、多元酸及多羟基芳香化合物均难溶于 SCF-CO_2，相对分子质量超过 500 的高分子化合物也几乎不溶。邓启焕等经过研究，将一种特殊的醇类物质与 CO_2 作为混合超临界流体，其最佳工艺条件为：银杏叶粒度为 5 目，萃取温度为 35～40℃，萃取压力为 20MPa 左右，萃取时间为 90 min，CO_2 流量为 15L。结果表明，萃取得率达 3.4%(一般溶剂萃取法为 1%左右)，银杏黄酮含量为 28%，银杏内酯含量为 7.2%，均高于国际现行公认的质量标准，同时萃取时间短，保持了有效成分的天然品质，而且不存在有机溶剂和重金属残留的问题，效果相当好。

2．葛根黄酮的提取分离

葛根总黄酮是葛根的有效成分，常以葛根素(puerarin)为主要成分和含量测定指标。赵浩如等采用乙醇

进行回流法、冷浸法、渗漉法提取的比较研究，同时进行了水煎煮法的比较，结果发现回流法得率最高，其次为渗漉法，煎煮法提取得率最低；在渗漉法中以乙醇为溶剂，速度为 2 mL/(kg·min)的渗漉法提取的总黄酮得率最高。因此，渗漉法是最合适的提取方法[31]。

张尊听[32]根据葛根中葛根素衍生物和大豆苷元衍生物能水解成葛根素(puerarin)和大豆苷元(daidzein)的性质，采用盐酸溶液对野葛根异黄酮提取物进行水解，将酸水解液用氯仿萃取，可分离出葛根素和大豆苷元。其工艺为以甲醇为溶剂，采用冷浸法从野葛根中提取总黄酮，盐酸浓度为 6%，水解 3h，由薄层扫描法(TLC-Scan)测得葛根素得率为 1.2%，大豆苷元得率为 0.5%。该工艺从葛根中提取分离葛根素和大豆苷元，操作简便、步骤少，容易实现工业化生产。

3. 淫羊藿黄酮的提取分离

郭宝林等[33]研究报道，将淫羊藿地上部分粉碎，用 95% 乙醇回流提取 3 次，浓缩得浸膏；浸膏溶于热水，过滤，滤液依次用石油醚(60～90℃)、二氯甲烷、乙酸乙酯、正丁醇萃取，正丁醇萃取液浓缩即得总黄酮浸膏；进一步的分离纯化，将总黄酮浸膏上聚酰胺柱层析，乙醇梯度洗脱，收集 10% 醇液、30% 醇液、50% 醇液 3 个流分；10% 醇液流分上硅胶柱层析，氯仿-甲醇梯度洗脱分离得到两种沉淀物，分别用甲醇重结晶得淫羊藿次苷(icariside)和宝藿苷-Ⅰ(baohuoside-Ⅰ)；30% 醇液流分用硅胶 H、聚酰胺反复层析，氯仿-甲醇系统洗脱，Sephadex LH-20—MeOH 层析，甲醇重结晶，可分得鼠李糖基淫羊藿次苷-Ⅱ(rhamnosylicariside-Ⅱ)、箭藿苷-B 和大花淫羊藿次苷(icariside)-F；50% 醇液流分上硅胶 H 柱层析，氯仿-甲醇系统梯度洗脱，甲醇重结晶，可得宝藿次苷-Ⅱ(baohuoside-Ⅱ)。

孙文基等[34]报道将箭叶淫羊藿地上部分水煎提取 3 次(1h/次)，过滤，合并滤液得水煎提取液，浓缩得浸膏；浸膏用乙醇回流提取，提取液回收乙醇得稀醇浸膏，先以二氯甲烷萃取至萃取液色浅时，再以氯仿-甲醇(5∶1)萃取，最后以乙酸乙酯萃取多次，合并乙酸乙酯萃取液，回收至少量，放置即析出沉淀，过滤得黄色粉末，用 60% 乙醇结晶数次得到淫羊藿次苷(icariside)。

黎万寿等[35]对以淫羊藿次苷(icariside)含量为指标，对淫羊藿的提取工艺进行研究。通过对加乙醇量、乙醇浓度、回流时间、回流次数共四个因素的正交实验，优选出最佳提取工艺为 15 倍量 70% 乙醇溶液回流提取 1h/次，共 2 次。含量测定采用 HPLC，其色谱条件为：WG C_{18} 9712002 柱，粒径 10 μm，4.6 mm×240 mm(大连依利特色谱公司)。流动相为乙腈-0.1mol/L NaH_2PO_4(35∶100)，流量 1.0 mL/min，柱温 35℃，波长 270 nm，0.0100AUFS。

4. 甘草黄酮的提取分离

陆蕴如等[36]报道甘草中黄酮成分的提取分离。其工艺流程为：甘草根粉碎，80% 乙醇渗漉，渗漉液浓缩得糖浆状物，热水溶解后用乙酸乙酯萃取，取水层，正丁醇萃取，萃取液浓缩得浅棕色固体即为甘草总黄酮，进一步上聚酰胺(60～80 目)柱层析，乙醇-水系统梯度洗脱，收集 3 个流分；流分 1 上硅胶中压柱层析，氯仿-甲醇梯度洗脱，分离得到异芒柄花苷(isoononin)和甘草苷(liquiritin)；流分 2 上 Sephadex LH-20 柱层析，制备薄层层析(氯仿-甲醇 8∶2)，可分离得到异甘草苷(isoliquiritin)；流分 3 硅胶夹板层析，低压聚酰胺柱层析，制备薄层层析，可分离得到新异甘草苷(neoisoliquiritin)和甘草素-7，4′-二葡萄糖苷(liquiritigenin-7，4′-diglucoside)。

胀果甘草中甘草查尔酮的提取分离[37]：胀果甘草粉末，用氯仿回流提取，提取液浓缩得棕黄色粉末，拌少量聚酰胺粉干法上样，进行聚酰胺柱层析，采用乙醇-水系统梯度洗脱，收集 30%～50% 醇液流分，浓缩至干得粉末，上氧化铝柱层析，氯仿洗脱，收集黄色流分，浓缩，放置过夜，即析出结晶，滤取结晶，用乙醇-水重结晶，可得到橘黄色针状结晶为甘草查尔酮(licochalcone)。

5. 其他黄酮类成分的提取分离

水飞蓟种子加 6 倍量稀乙醇回流提取 2 次，提取液回收至无醇味得浓缩液，乙酸乙酯萃取，萃取液减压回收至干，得浅黄色松散粉末，加 3 倍量石油醚浸泡过夜，过滤，干燥，即得水飞蓟总黄酮[38]。

李玉琪等[39]采用正交实验设计，研究赤土茯苓中总黄酮的提取工艺。其最佳提取工艺流程为：赤土茯

苓饮片粉碎，过筛(30 目)，用 8 倍量 80%乙醇回流提取 2 次，每次 1h，合并提取液，浓缩即得赤土茯苓总黄酮。以芦丁为对照品，用三氯化铝、乙酸钾显色，采用紫外分光光度法测定总黄酮含量。结果表明提取率达 90%以上，工艺经济、省时，回收率高，可用于工业生产。

地锦草是大戟科植物地锦(*Euphorbia humifusae* Wild.)的干燥全草，具有止血、燥湿、愈伤、清脑及清脉热等功效。巴根那等采用正交实验设计，对蒙药地锦草总黄酮的提取工艺进行研究。其最佳工艺流程为：6 倍量 75%乙醇浸泡 12h 后，回流提取 1.5h，共提取 3 次，提取液经石油醚脱色后，用正丁醇萃取，浓缩即得精制总黄酮。同时与水提取法相比较，发现乙醇提取法优于水提取法[40]。

总的来说，一些新的提取分离技术虽然有应用的前景，但多限于实验室应用阶段，用于黄酮类化合物的工业生产还较少，需要进一步研究开发与摸索实践。常用的传统方法，虽然有自身的不足之处，但其应用较普遍，技术原理较简单，研究也比较成熟，短期内仍经常用于各类黄酮类化合物的提取分离中。

第三节 黄酮类化合物的鉴别和结构研究

一、鉴 别

常用的黄酮类化合物的定性鉴别方法有理化鉴别、薄层鉴别、HPLC 鉴别等，以下做一简单介绍[7,8]。

1. 理化鉴别

主要是根据化合物的理化性质来确定其属于哪一类黄酮化合物。

(1) 颜色，旋光，溶解度

不同类型的黄酮化合物的颜色(如黄酮呈黄色，二氢黄酮几乎无色)、旋光(如黄酮无旋光，二氢黄酮有旋光)、溶解度(如黄酮苷元难溶于水，黄酮苷则常可溶于水)等有所差异，可以根据此性质初步地判断化合物的类型；第一节中"黄酮类化合物的理化性质"已有陈述。

(2) 显色反应

1) 盐酸-镁粉反应。样品的乙醇或甲醇溶液加少量镁粉振摇，再滴几滴浓盐酸，1～2 min 即可显出颜色(必要时可水浴加热)。黄酮类、黄酮醇类、二氢黄酮类及二氢黄酮醇类为正反应，显红色至紫红色，个别显蓝色或绿色(如 7,3′,4′-三羟基黄酮)，分子中特别是 B 环有—OH 或—OCH_3 取代时颜色加深。黄酮类化合物如没有 3-OH 或其被糖苷化，则显色反应不明显。异黄酮、查尔酮、噢哔及儿茶精类为负反应。但某些噢哔、查尔酮及花色素类，在浓盐酸中也会有颜色变化，因此样品溶液不加镁粉而直接加浓盐酸若产生红色，则表明样品含有花色素类或某些噢哔或查尔酮类。

2) 钠汞齐还原反应。向样品乙醇溶液中加入钠汞齐，放置数分钟至数小时后加热，过滤，滤液用盐酸酸化，黄酮、二氢黄酮、异黄酮及二氢异黄酮类显红色；黄酮醇类显黄色至淡红色；二氢黄酮醇类显棕黄色。

3) 三氯化铝显色反应。样品乙醇溶液和 1%三氯化铝乙醇溶液通过纸斑反应后，于紫外灯下显鲜黄色荧光，但 4′-羟基黄酮醇或 7,4′-二羟基黄酮醇显天蓝色荧光。

4) Gibbs 反应。将样品溶于吡啶中，加入 Gibbs 试剂，5-OH 对位未被取代的黄酮类化合物显蓝色或蓝绿色。

其他还有四氢硼钠还原反应、锆盐-枸橼酸反应及氨性氯化锶反应等。

2. 薄层层析

利用纸层析、聚酰胺薄膜层析及硅胶薄层层析等进行层析，根据展开后的 R_f 值、喷显色剂及紫外荧光等来鉴别或与已知标准品对照层析。对于纸层析来说，平面型的黄酮类、黄酮醇类、查尔酮类等用亲水性溶剂(如 2%～5%乙酸)作为展开剂，样品几乎在原点不动($R_f<0.02$)；非平面型的二氢黄酮、二氢黄酮醇、异黄酮等亲水性较强，R_f 值为 0.10～0.30；若用醇性展开剂如正丁醇-乙酸-水(4:1:5)，平面型化合物的 R_f

值大于非平面型化合物，且随着羟基数目的增加 R_f 值会变小。黄酮苷类极性较大，在极性展开剂中其 R_f 值大于游离的苷元，而且糖的结构与糖连接的位置也会影响 R_f 值。聚酰胺薄膜层析及硅胶薄层层析使用比较多，在此就不一一介绍了。

紫外、红外光谱也有鉴别作用，可根据实测数据进行推断，或与标准谱进行比较；HPLC 则可经过与标准品或标准谱进行比较来进行鉴别；其他还有 GC、NMR、MS 等。各种鉴别方法及其结果（特别是 TLC、TLC-Scan、HPLC 及 GC 等）可以互相结合成黄酮类化合物的指纹图谱（fingerprint spectrum），更有利于黄酮类化合物的快速鉴别。

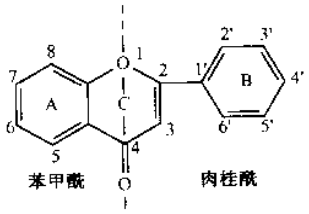
二、结构研究

对于已知黄酮类化合物，一般可通过化学方法（如制备衍生物、颜色反应等）和波谱解析（如 IR、UV、NMR 等）即可鉴定其结构。如果有已知物的标准品，经过 TLC 对照，混合熔点测定，红外光谱对照等更容易确定其结构。由于黄酮类化合物的研究比较系统全面，各种黄酮苷元的结构研究很彻底，糖类的构型及连接位置等由于波谱技术（特别是核磁共振技术）的不断发展和完善，也很容易确定。因此，即使是未知的黄酮类化合物，利用当前的波谱技术（IR、UV、NMR、MS 等）及一些辅助的化学方法，也是很容易鉴定其结构的。对于结构特殊的黄酮类化合物，则可以通过全合成得到佐证。这一方面的研究很多，具体可参考专著《黄酮体化合物鉴定手册》、《天然产物化学》（徐任生主编，1993）等论著的相关章节。

1．黄酮类化合物的光谱学特征

黄酮类化合物的母体结构由 A、B、C 三个部分组成。A 和 B 为取代的芳香环，C 部分为饱和的或不饱和的六元环或五元环，或者是饱和的或不饱和的脂肪链；在 3，4 位可以有 1 个或 2 个氧取代，也可以没有；B 环可以取代在 2 位，也可取代在 3 位。但多数化合物 4 位为酮基，B 环取代在 2 位。由于 C 部分的差别，可以构成多种多样的黄酮化合物，因此 C 部分是区别各类黄酮化合物的特征结构。这些结构的差别，反应在光谱学上，即称为光谱学特征。可以利用这些光谱学特征鉴别各类黄酮化合物并进行结构研究。随着现代光谱学的发展和应用，一般黄酮化合物的鉴定和结构研究仅由其本身及其衍生物的光谱学测定即可完成。只有少数化合物需要通过化学降解或合成进行证明。

黄酮类的母核若通过氧原子与 4 位羰基划一条线，可将其结构分成 A，B 两部分，A 环部分可看成苯甲酰的衍生物，B 环部分可看做肉桂酰的衍生物。黄酮类的紫外光谱可以解析为与上述苯甲酰和肉桂酰相当的两部分，产生自肉桂酰部分的吸收峰称为带Ⅰ（300～400 nm），在长波区；产生自苯甲酰部分的吸收峰称为带Ⅱ（240～280 nm），在较短波区。常以带Ⅰ与带Ⅱ的波长范围鉴别黄酮类化合物的结构类型和氧取代位置；芳香氢有羟基取代，可使相关的带Ⅰ或带Ⅱ向长波区移动，移动值的多少能帮助推断羟基的取代位置；若羟基中的氢原子被甲基取代（甲基化）或被糖取代（苷化）则使相关的吸收带向短波移动 5～15 nm；若被乙酰基取代（乙酰化），则该羟基对紫外光谱的贡献消失，即其紫外光谱与没有该乙酰氧基的相应化合物类似，因此在测定黄酮类的紫外光谱时，常加入各种诊断试剂（如甲醇钠、乙酸钠、三氯化铝、乙酸钠-硼酸及三氯化铝-盐酸等），通过检测带Ⅰ和带Ⅱ随诊断试剂不同而发生特定的变化（红移或紫移）并与加入诊断试剂前的紫外光谱比较，可初步确定其母核结构及羟基位置等信息。紫外光谱的详细讨论可参考“手册”第四章至第七章及《天然药物化学》（姚新生主编，1992）等论著的相关章节。渠桂荣等[41]研究报道利用黄酮鉴定试剂结合其他波谱技术鉴定了裂叶苣荬菜中 10 种黄酮与黄酮苷的结构。

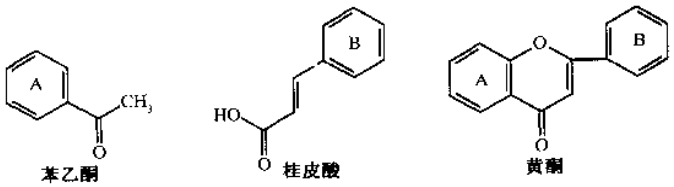


红外光谱没有特征性，黄酮类化合物中的羰基、酚羟基、苯环、糖基等均有相应的红外吸收，如无取代的双氢黄酮分子中羰基的吸收峰为 1680～1685 cm^{-1}，查尔酮为 1659 cm^{-1}左右，黄酮则约为 1649 cm^{-1}；酚羟基、糖基上的羟基在 3200～3650 cm^{-1}范围吸收峰；苯环的骨架振动在～1450 cm^{-1}、～1500 cm^{-1}、～1580 cm^{-1}、～1600 cm^{-1}有吸收峰；氧杂环在～1400 cm^{-1}、～1500 cm^{-1}、～1600 cm^{-1}有吸收峰等。具体解析结构时可参照一些参考书的文献数据，如《有机分析》(陈耀祖编著，高等教育出版社，1983)、《有机化合物结构鉴定与有机波光谱学》(宁永成编著，科学出版社，2000)等。

^{1}H-NMR 和^{13}C-NMR 对鉴别黄酮类结构类型、决定取代基位置和进行结构研究是最有效的方法。由于近年来 FT 核磁共振技术的发展，仅以 $CDCl_3$ 溶解少量黄酮样品(1 mg 或以下)进行累加，即可获得满意的^{1}H-NMR谱；若样品在 $CDCl_3$ 中的浓度不能满足测定要求，可在 $CDCl_3$ 中加入 1～3 滴 CD_3OD 增加其溶解度或制备三甲基硅醚衍生物在 CCl_4 中测定，所测数据与在 $CDCl_3$ 中的数据接近，便于图谱间比较。DMSO-d_6 对多数黄酮类化合物可以溶解，但其沸点较高、不便于样品回收，而且氘代不完全的甲基峰和水峰会遮盖黄酮苷中糖的部分质子。近年来常用 $CDCl_3$-DMSO-d_6[(2～4)∶1]混合溶剂测定核磁共振谱，由于溶剂由两种组分组成使溶剂峰相对强度降低，可减少对样品峰的遮盖，并能增加样品的溶解度和便于样品回收，但所测^{1}H-NMR数据与 $CDCl_3$ 中的数据相比，可向低场位移 1 ppm 左右，这样大的溶剂位移仅可用于与类似溶剂所测数据的比较；而在^{13}C-NMR中的溶剂位移不超过 0.5 ppm，对于化学位移范围宽约 200 ppm 的^{13}C-NMR来说，这点位移可忽略不计，因此黄酮类的^{13}C-NMR多采用 $CDCl_3$-DMSO-d_6 混合溶剂或 DMSO-d_6 测定。

黄酮类化合物的^{1}H-NMR 的解析。在芳香质子区，B 环质子在低场 δ 6.5～8.0(H-2′，H-6′在较低场 δ 7.0～8.0)，因相对位置不同可表现出不同的裂分情况；A 环质子在较高场 δ 6.0～7.0(H-5 除外，因受酮基的去屏蔽影响，在较低场 δ 8.0 左右)；C 环质子较为复杂，其所示特征是区别黄酮类化合物的主要依据；糖的质子在 δ 3.0～6.0。质子间的偶合方式比化学位移更重要，通常根据质子间的偶合关系推定取代位置。羟基乙酰化后，分别使邻、间、对位质子信号向低场位移 0.3 ppm、0.15 ppm 和 0.5 ppm，可借此推定羟基位置。若在无水 DMSO-d_6 中测定，5-OH 因与酮基形成氢键，在低场 δ 12.40 出现一尖峰，而 7-OH 和 3-OH分别在 δ 10.93 和 δ 9.70，甲基位置的推定，可应用分子内 NOE 测定和溶剂位移规律。

黄酮类化合物的^{13}C-NMR 信号的归属可以通过与简单的模型化合物如苯乙酮(acetophenone)、肉桂酸(cinnamic acid)及其衍生物的光谱进行比较，或者用经验性的简单芳香化合物的取代基位移加和规律进行计算等方法加以解析。但在比较复杂的系统中，信号化学位移的实测值与计算值有时差异较大，此时对信号归属的正确解析还需借助于 DEPT、HMQC、HMBC 等 NMR 技术。在^{13}C-NMR谱中，可根据中央三碳链的信号位置及其在偏共振去偶谱中的裂分情况，推定 C 环骨架类型；还可根据芳香碳原子的信号特征确定取代基的取代方式。根据苷化位移可以区别 *O*-苷、*C*-苷及其连接位置等，对于糖的端基构型，可根据偶合常数 $J_{C1\text{-}H1}$值来确定，β-异构体的 $J_{C1\text{-}H1}$值一般为 160Hz，α-异构体的 $J_{C1\text{-}H1}$值一般为 170Hz[29]。对于黄酮苷中糖基的结构研究，可根据^{13}C-NMR中出现在 δ 99.0～109 范围内端基碳(C-1″)的信号来确定糖的数目；再结合文献报道数据确定糖的种类及环的类型；对于多糖苷，可以测定 T_1 值或进行部分水解再结合核磁共振及质谱来推测糖链的连接顺序。例如，崔承彬等[42]对文冠木中 5 个黄酮类成分的 NMR 的结构进行研究，归属了各成分的^{1}H-NMR及^{13}C-NMR信号；Kitanaka 等[43]利用^{13}C-NMR数据并结合其他波谱数据鉴定了珠节决明(*Cassia torosa*)叶子中 4 个黄酮及黄酮苷成分。



苯乙酮　　桂皮酸　　黄酮

随着分离纯化技术的不断发展完善，各种黄酮类成分的研究已经比较系统全面，目前研究的热点是微量、含糖数目较多的黄酮苷类成分等。由于信号较多，许多位置(如端基碳区)会发生重叠，较难明确归属所有碳信号，仅靠碳谱确定糖的数目、种类以及利用苷化位移确定苷键位置和糖的连接顺序等比较困难。近年

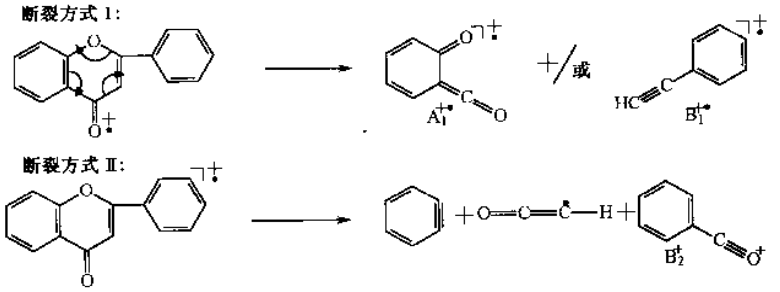
来，二维核磁共振技术的迅猛发展，为黄酮苷及各类化合物的结构鉴定提供了有力的武器。如用双量子滤过相敏感相关谱(DQPS-COPY)及中继相干传递谱(RCT)，结合 T_1 值测定、2D-NOE 等核磁共振技术，辅以FAB-MS，即可简便明确地解决样品量少而含糖数目较多的黄酮苷中糖的连接顺序及连接位置等问题[42]。一些新的核磁共振技术的详细介绍可参考《有机化合物结构鉴定与有机波光谱学》(宁永成编著，科学出版社，2000)及一些专业期刊等。游松等报道利用^{1}H-NMR、^{13}C-NMR、NOEDS、DEPT、^{1}H-^{1}HCOSY、HMQC、HMBC 的波谱数据确定了银杏叶中金松双黄酮的结构和信号归属；易以军等利用^{13}C-NMR、COLOC、NOESY 的波谱数据确定了 7,6′-二羟基-3-甲氧基异黄酮和落新妇苷的结构；曹正中等利用 HMBC 进一步解析了 3′-methoxy-5′-hydroxy-isoflavone-7-*O*-β-D-glucoside 的化学结构[42]。

质谱的应用也很重要。在测定黄酮类化合物苷元，特别是样品量很少时，电子电离质谱(EI-MS)是常用的有效方法，仅需 1～50μg 样品。大多数黄酮类化合物苷元的分子离子峰都很强，常为基峰。黄酮苷类化合物在 EI-MS 中不显示分子离子峰，也不显示糖基碎片，故一般不用 EI-MS 测定。利用场解吸附质谱(FD-MS)测定黄酮苷类成分，除分子离子峰 M^+ 和 $(M+1)^+$ 基峰，还出现糖基的某些碎片，为该类化合物的鉴定提供了重要的信息。在 FD-MS 中，因 $(M+^{23}Na)^+$ 离子的强度随溶剂极性及发射丝电流强度的变化而变化，因此可以辨认分子离子峰(M^+)及伪分子离子峰$(M+1)^+$。如董英杰等[42]利用 FD-MS 及其他波谱技术鉴定了大果山楂叶中的两个黄酮苷类成分。

20 世纪 80 年代发展起来的快原子轰击质谱(FAB-MS)，也是一种固体样品测试技术，苷类成分可形成离子复合物后由其进一步裂解，其碎片类型与 FD-MS 基本相同；同时配备了阴离子捕获器，还可得到相应的阴离子质谱，与阳离子质谱互相补充，大大增加了其信息的来源和可信程度。FD-MS 和 FAB-MS 各有所长，FD-MS 在高质量区提供的信息比较详尽，但不能提供有关苷元部分的碎片信息；FAB-MS 除了给出相对分子质量、糖基碎片信息外，在低质量区还可给出苷元的结构碎片信息，从而弥补了 FD-MS 的不足，目前在实际应用中也大多采用 FAB-MS 测试苷类成分。如李文魁等[42]利用 FAB-MS 及其他波谱技术鉴定了朝鲜淫羊藿中的两个黄酮苷及黄酮醇苷成分的结构。

黄酮类化合物的质谱(MS)裂解规律一般有两个共同断裂方式：断裂方式Ⅰ和断裂方式Ⅱ。

断裂方式Ⅰ产生两个碎片 $A_1^{+\cdot}$ 和 $B_1^{+\cdot}$；断裂方式Ⅱ实际上只产生一个碎片 B_2^+。碎片 $A_1^{+\cdot}$ 可提供 A 环的取代信息，从 $B_1^{+\cdot}$ 和 B_2^+ 碎片可得知 B 环的取代信息。



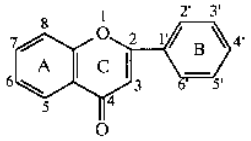
圆二色谱(CD)和旋光谱(ORD)的经验规律可用于推定双氢黄酮类和双氢黄酮醇类 C 环中手性碳的绝对构型。

目前利用单晶 X 射线衍射可以得到数千个独立衍射和可观察数据点，从而可获取化合物分子中各个原子的坐标，确定化合物中各个原子的空间相对位置，最终为确定化合物的分子结构提供直观可靠的立体图形。刘延等[42]报道利用单晶 X 射线衍射确定了天葵苷中糖的连接位置和构型。

综上所述，近年来各种结构鉴定技术日益发展完善，为黄酮类化合物的结构解析提供了强有力的手段与方法，有助于阐明各种黄酮类成分的结构及其开发应用。以下主要介绍各类黄酮化合物的光谱学特征，但这些特征有时也有例外，在具体解析时要综合考虑。

(1) 黄酮类

1) UV。带Ⅰ范围 304～350 nm;带Ⅱ范围 240～280 nm。B 环增加氧取代使带Ⅰ向长波移动,对带Ⅱ影响不大。有时使带Ⅱ分成两个峰:带$Ⅱ_a$和带$Ⅱ_b$,在较长波区者称为带$Ⅱ_a$。A 环氧取代使带Ⅱ向长波移动,对带Ⅰ影响较小。5-OH 对带Ⅰ、带Ⅱ均有影响,一般使带Ⅰ向长波移动 3～10 nm,带Ⅱ向长波移动 6～17 nm。



2) ^{1}H-NMR。特征质子 H-3, s, δ～6.3,有时与 A 环质子混在一起。

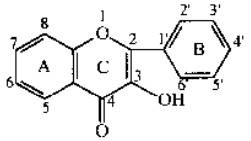
3) ^{13}C-NMR。C-2, s, δ 160.0～165.5;C-3, d, δ 104.0～111.8;C-4, s, a. δ 176.3～178.3, b. δ181.0～183.5

(a 表示氢键缔合羰基的化学位移,b 表示游离羰基的化学位移,下同)

4) MS。同时存在两种断裂方式,产生 $A_1^{+\cdot}$、$B_1^{+\cdot}$ 和 B_2^+ 三种碎片,其中 $A_1^{+\cdot}$ 和 $B_1^{+\cdot}$ 峰较强,有时伴随氢转移,有$[A_1+H]^+$离子峰。

(2) 黄酮醇类

1) UV。与黄酮类类似。由于 3-位有羟基取代,使肉桂酰基的吸收向长波移动,带Ⅰ比黄酮类在长波区(352～385 nm);若 3-OH 苷化或甲基化带Ⅰ的波长范围与黄酮类重叠,带Ⅱ范围与黄酮类在相同波长区。



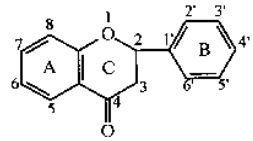
2) ^{1}H-NMR。无 H-3 吸收峰。

3) ^{13}C-NMR。C-2, s, δ 145～150;C-3, s, δ 136～139;C-4, s, a. δ 172.5～174.0, b. δ 175.0～177.7。与黄酮类比较,C-3 由 d 峰变成 s 峰并向低场位移约 30 ppm;C-2 向高场位移约 15 ppm。

4) MS。多数苷元的基峰为分子离子峰,有弱的$[A_1+H]^+$和 B_2^+ 离子峰。

(3) 双氢黄酮类

1) UV。由于肉桂酰的双键饱和使羰基不能与 B 环共轭,带Ⅰ的强度减弱并向短波方向移动而成为带Ⅱ的肩峰或低强度峰;B 环氧取代增加对紫外光谱改变不明显。带Ⅱ(270～295 nm)是强峰,其体现了苯乙酮衍生物的共轭吸收,5-OH 使带Ⅱ向长波移动 5～15 nm。



2) ^{1}H-NMR。特征质子 H-2 因与两个磁场不同的 H-3 相偶合而裂分为 dd 峰,δ 5.0～5.5(中心位于 δ 5.2),$J_{2,3\text{-}cis}$ = ～5,$J_{2,3\text{-}trans}$ = ～11;两个 H-3 因相互偕偶又与 H-2 邻偶而各自裂分为 dd 峰(中心位于 δ 2.8),常相互重叠不易区分而成 ddd 峰,δ～2.8,$J_{3,3}$ = ～17,$J_{2,3\text{-}cis}$ = ～5,$J_{2,3\text{-}trans}$ = ～11。

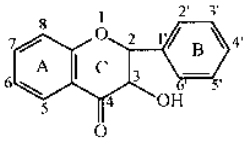
3) ^{13}C-NMR。C-2, d, δ 75.0～80.3;C-3, t, δ 42.5～44.6;C-4, s, a. δ 188.6～194.6, b. δ 195.0～198.0。与黄酮类和黄酮醇类相比,在中场区有两个 sp^3 碳(C-2 和 C-3),羰基碳向低场位移约 10 ppm。

4) MS。特征碎片有[M－B环]$^+$和[B环＋H]$^+$离子。另外，还有$A_1^{+\cdot}$和$[A_1+H]^+$碎片峰。

5) CD。从400～200 nm有4个Cotton效应出现。2*S*构型的Cotton效应符号顺序为：(＋)(300 nm, $n\rightarrow\pi^*$)，(－)(280～290 nm)，(＋)(245～270 nm)，(－)(225～240 nm)；2*R*构型的Cotton效应则相反。

(4) 双氢黄酮醇类

1) UV。与双氢黄酮类的特征相同，3-OH对紫外光谱影响不大。



2) ^{1}H-NMR。特征质子H-2及H-3构成反式二直立键系统，故分别作为一个二重峰出现：H-2，d，δ 4.8～5.1，$J_{2,3}$=8～11；H-3，d，δ 4.1～4.6，$J_{2,3}$=8～11。3-*O*-苷的H-2和H-3均比其苷元低场位移0.5 ppm，H-2位于δ 5.0～5.6，H-3位于δ 4.3～4.6。

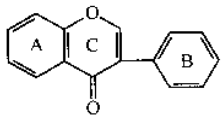
3) ^{13}C-NMR。C-2，d，δ 83.0～84.5；C-3，d，δ 71.0～73.5；C 4，s，b. δ 195.0～198.0。与双氢黄酮类相比C-3由t峰变为d峰并向低场位移30 ppm。

4) MS。特征碎片为O_1—C_2和C_2—C_3键断裂，同时一个氢从3位移到2位形成B环碎片。另外，还有$A_1^{+\cdot}$和$[A_1+H]^+$等碎片离子峰。

5) CD。多数天然双氢黄酮醇类化合物为2*R*，3*R*构型。从400～200 nm Cotton效应符号顺序为：(＋)、(－)、(＋)、(＋)，其苷类不改变符号，仅改变振幅。2*S*，3*S*构型的Cotton效应则相反。

(5) 异黄酮类

1) UV。由于C环双键不与B环和酮基形成直线共轭系统，紫外光谱与双氢黄酮及双氢黄酮醇类类似，带Ⅱ(245～270 nm)吸收较强，A环三氧取代的带Ⅱ在265～270 nm间；带Ⅰ常以带Ⅱ的肩峰或低强度峰出现，但6，7-二氧取代异黄酮的带Ⅰ较强(与黄酮类的UV类似)。5-OH使带Ⅱ向长波方向移动7～17 nm；5-OH甲基化或苷化后向短波方向移动5～10 nm。



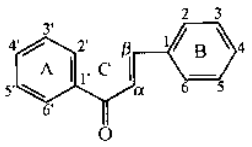
2) ^{1}H-NMR。特征质子H-2(因受到1位氧原子和4位羰基影响而向低场位移)，s，δ 7.8～8.1或δ 8.5～8.7(DMSO-d_6)，与其他类型的黄酮类化合物相比，在低场区有一特征的单峰质子。

3) ^{13}C-NMR。C-2，d，δ 149.8～156.5；C-3，s，δ 122.3～125.9；C-4，s，a. δ 174.5～178.6，b. δ 181.0～182.5。其C-2的化学位移与黄酮醇类相近，但为d峰。

4) MS。产生$A_1^{+\cdot}$和$B_1^{+\cdot}$等碎片离子峰。

(6) 查尔酮类

1) UV。由于C环开环，肉桂酰和苯甲酰系统不受C环环电流的影响，使带Ⅰ(340～390 nm)出现在长波区且吸收强度增加；同时带Ⅱ(220～270 nm)减弱而成为低强度峰或肩峰。A环和B环的氧取代增加，除使带Ⅰ和带Ⅱ相应地向长波方向移动外，有时还使其各分成两个带：I_a、I_b和II_a、II_b(波长较长者为I_a和II_a)。



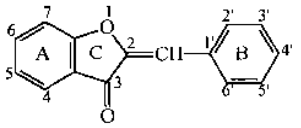
2) ^{1}H-NMR。H-α 在δ 6.7～7.6,H-β 在δ 7.3～8.0,形成一对 AB 型吸收峰,反式 J = 17,有时被 B 环质子遮盖。

3) ^{13}C-NMR。C-α, d, δ 116.6～128.5;C-β, d, δ 136.9～145.4;C═O, s, δ 188.6～194.6。

4) MS。羰基两边均可断裂,分别形成 A 环、$[A\cdot CO]^+$、$[B\cdot CH_2]^+$、$[B\cdot CH{=}CH]^+$及 B 环肉桂酰碎片等。

(7) 噢哢类

1) UV。噢哢类的 B 环共轭系统可看做 2-氧代肉桂酰系统,因此其带Ⅰ比相应的查尔酮出现在更长波区(370～430 nm),并且带Ⅱ很弱,与查尔酮类的紫外光谱特征相似。



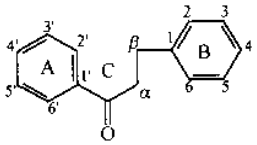
2) ^{1}H-NMR。═CH, s, δ 6.5～6.7,*E*,*Z* 异构体无明显区别,有时被 A 环质子遮盖。

3) ^{13}C-NMR。C-2, s, δ 146.0～147.9;C-3, s, δ 182.5～183.0;═CH, d, Z 构型 δ 111.5～112.0,*E* 构型 δ 121～122。环外双键烯碳的化学位移可区别双键构型,*E* 异构体比 *Z* 异构体向低场位移约 10 ppm。

4) MS。主要碎片为$[M-H]^+$、$[M-CO]^{+\cdot}$和$[A_1-H]^+$等。

(8) 双氢查尔酮类

1) UV。带Ⅱ呈现苯乙酮衍生物的吸收,较强;带Ⅰ为低强度峰或肩峰,与双氢黄酮类的紫外光谱特征相似。



2) ^{1}H-NMR。H-α 和 H-β 在δ 2.0～3.0 有四个质子的多重峰。

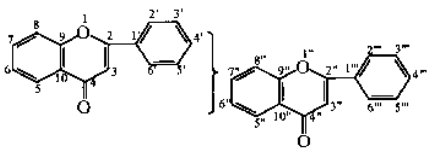
3) ^{13}C-NMR。C-α, t, δ 40～45;C-β, t. δ～30;C═O, s, δ 200～205。

4) MS。酮基两侧均可能断裂并形成 A 环、B 环碎片等。

(9) 双黄酮类

连接方式:C-6/C-6″、C-8/C-8″、C-6/C-8″、C-3/C-8″、C-3/C-3″、C-3′/C-8″、C-3′/C-6″、C-3′/C-3‴、O-4′/C-6″、O-4′/C-8″、O-4′/C-3‴等。

1) UV。呈现两个相应黄酮类和联苯衍生物(C—C 连接)或联苯醚衍生物(C—O 连接)紫外光谱的混合吸收,图谱比相应的单黄酮类复杂。



2) ^{1}H-NMR。与相应的单黄酮类相比,缺少连接位质子信号。

3) ^{13}C-NMR。与相应的单黄酮类相比,连接碳向低场位移 4.5～9.9 ppm,并由 d 峰变为 s 峰,其他碳的位移不明显。双黄酮类化合物若分子中两部分氧化水平不同,则会在不同的磁场处出现两个 C═O 吸收峰。

4) MS。分子离子峰不易出现,但采用 FD-MS 可获得。若应用 EI-MS,多数是制备其全甲基化衍生物后测定。裂解方式与相应的单黄酮类类似,并有联苯或联苯醚碎片等。

2．黄酮苷元的结构研究

已知黄酮类化合物(包括黄酮苷元和黄酮苷)的鉴定，一般通过衍生物制备和谱学解析即可完成；若有已知物的标准品，在经过混合熔点测定，红外光谱对照等，可使鉴定更有说服力。未知物的结构研究，在衍生物制备、谱学解析初步推定结构后，可采用谱学的特殊测定或化学降解及化学转化对推定结构加以验证；个别结构特殊的化合物还可以通过全合成证明。

(1) 衍生物的制备

黄酮类化合物常用的衍生物为乙酰化物和甲基化物。制备这些衍生物一方面是与文献中已知化合物的理化数据(谱学数据)对照，借此加以比较鉴定；另一方面是将这些衍生物与原化合物的谱学数据进行比较而推定结构，如酚羟基乙酰化后，可使羟基对紫外光谱的贡献消失，并使邻、间、对位质子的^{1}H-NMR信号向低场位移 0.3 ppm、0.15 ppm 和 0.5 ppm，以此可推测羟基的取代位置。此外，乙酰化或甲基化后使各种谱学的测定更加容易，如可使质谱测定容易出现分子离子峰；使样品在 $CDCl_3$ 中的溶解度增大而满足核磁共振测定的浓度要求。因此，不管是已知物或未知物的结构研究，经常制备其乙酰化物和甲基化物用子各项测定。以下分别介绍这两种衍生物的制备。

1) 乙酰化物的制备。乙酐或乙酰氯在催化剂(如吡啶、乙酸钠、浓硫酸、4-二甲胺基吡啶及对-甲基苯磺酸等)作用下可使羟基乙酰化，所用试剂都必须无水。其中以乙酸酐-吡啶法最为常用，其常规操作为：将样品(数毫克或数十毫克)溶解于少量无水吡啶(氢氧化钾干燥)中，加 2 倍量的乙酸酐，室温放置 3～5d，然后将反应物倒入冰水中，静置数小时后析出结晶或固体沉淀，滤出，以适当溶剂结晶即可。该法操作简便、反应温和，几乎能定量的得到反应产物。有时因 5-OH 与酮基生成氢键而不易乙酰化，可将反应时间延长或加热；若仍得不到所需产物或反应产物复杂，可改用酸催化法；立体障碍大的叔醇或酚羟基，可以用 4-二甲胺基吡啶和三乙基胺的混合物(1:6)代替吡啶，室温放置数天或加热数小时也几乎定量的乙酰化。

某些黄酮苷类及某些遇碱不稳定或在碱中容易异构化的黄酮类化合物，以碱催化时反应产物复杂或不易乙酰化，可用微量的浓硫酸或无水对-甲基苯磺酸催化，其操作方法为：将样品溶于乙酐中，用毛细管吸少许浓硫酸，待毛细管底端流出半滴时，使流出的半滴硫酸吸在反应器内壁上，然后振摇，使瓶壁上的浓硫酸溶解于反应液中(或以 1～2 粒无水对-甲基苯磺酸结晶代替浓硫酸)，室温放置数十分钟至数天，待反应完全(以薄层层析检查)后倒入冰水中，处理方法同前。

2) 甲基化物的制备。重氮甲烷能使酚羟基甲基化，其操作方法为：样品溶于甲醇或乙醚中，加入适量的重氮甲烷乙醚溶液，在通风橱中放置过夜；薄层检查如反应不完全，继续加入过量重氮甲烷乙醚溶液，直至反应完全为止，蒸去溶剂后以适当溶剂结晶即可。该法的反应产物便于处理且产量高，若 5-OH 因生成氢键不易甲基化，可用硫酸二甲酯或其他方法甲基化。

硫酸二甲酯可使黄酮化合物全部甲基化，其操作方法为：样品溶于丙酮中，加过量的碳酸钾粉末，在搅拌下加入 2 倍物质的量的硫酸二甲酯，搅拌回流数小时(加入催化量冠醚 18-crown-6 可缩短反应时间)直至薄层检查反应完全为止，滤去固体并以丙酮洗涤，滤液与洗液合并，蒸干后经层析处理或以适当溶剂结晶即可。

还有一个快速、简便的全甲基化方法，适用子各种苷类及糖类的全甲基化，产量很高，且便于甲基化物的气相层析分离、鉴定。其操作方法为：将 4～5 mg 糖或苷类溶于 0.3～0.5 mL DMSO 中，在室温加入磨细的氢氧化钠粉末 20 mg，搅拌 6 min，再加入 0.1 mL 碘甲烷，搅拌 6 min 反应即完成，然后加水和氯仿各 1 mL，取氯仿层水洗后干燥，蒸干，进行层析处理或以适当溶剂结晶即可。在实际操作中，由于在反应中加入过量的碱，某些易水解的酰基会脱落，继而将新生成的羟基甲基化，在结构测定时需加以考虑。

(2) 光谱学的特殊测定

因黄酮苷元结构一般比较简单，经各种常规谱的测定、衍生物制备及其与衍生物的各种谱的比较，即可推定其结构。只有结构较特殊或出于进一步证明结构的目的才需要光谱学的特殊测定。

1) 羟基位置诊断试剂的紫外光谱测定。常用的羟基位置诊断试剂有甲醇钠、乙酸钠、三氯化铝、乙酸钠-硼酸及三氯化铝-盐酸等。通过这些试剂加入前后紫外光谱的比较而得出的位移值可判断羟基的位置。

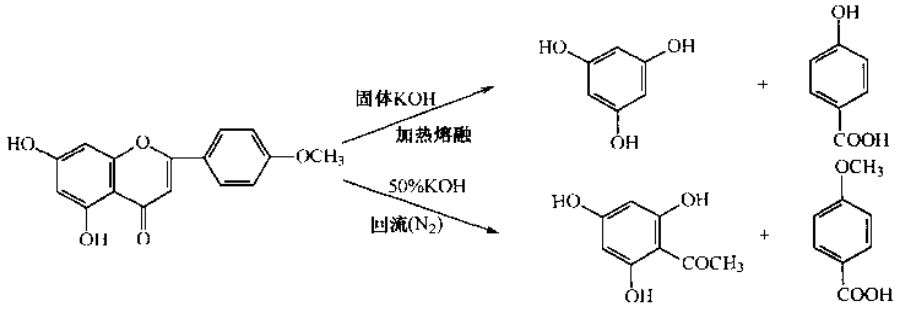
具体实验方法及各诊断试剂引起紫外光谱改变与各类黄酮羟基位置的关系，可参考《天然药物化学》(姚新生主编，1992)等论著。这种测定需要样品量少(微克级)，因方法简便而广泛应用。

2) ^{1}H-NMR-NOE 和溶剂位移测定。应用甲氧基质子与邻位芳香质子产生 NOE 增益可推定黄酮甲氧基位置；氘代苯对黄酮中不同位置的甲氧基所产生的^{1}H-NMR诱导位移也有经验规律报道，并已用于结构测定。这两个方法是测定甲氧基的重要方法，尤其是前者，可靠而简便，且可用于阐明立体化学；若黄酮母核上有并环，可应用质子间的 NOE 关系推定并环的位置及阐明质子的立体化学。另外，采用 HMBC 技术测定，通过甲氧基与相连的碳有相关的信号可以容易的确定其位置，而 NOESY 技术用于立体化学研究也很方便。

(3) 化学降解

化学降解是将复杂结构的化合物用化学方法分解成结构较简单的化合物，然后通过对降解物的结构研究而阐明原来的复杂结构。在光谱学高度发展的今天，其在结构研究中已不常用，但对结构奇特的化合物来说，用化学降解的方法进行结构研究仍是一种重要途径。常用的方法有氧化、还原及碱分解法等，其中碱分解法最常用。碱分解法又分为固体碱熔融和溶液碱分解，其各自产物有所不同。

固体碱熔融是将样品与 10 倍量固体氢氧化钾或氢氧化钠混合，加热至熔融态并维持数分钟至数十分钟，冷却后将反应产物分为酸性部位和酚性部位。在酸性部位可得到代表 B 环结构的苯甲酸衍生物，在酚性部位则得到 A 环结构失去 4 位酮基的苯酚衍生物。在该条件下，芳香核上的烃基和烃氧基有时可脱烃基。反应式如下：



溶液碱分解的条件较温和，是将样品溶于 50% KOH 溶液中，在氮气下加热回流数十分钟至数小时，然后再将反应产物分为酸性部位和酚性部位。在该条件下，芳香核上的烃基和烃氧基都保留。从酚性部位可得到代表 A 环结构的苯乙酮衍生物和(或)苯酚衍生物(由反应时间长短和化合物类型所决定)；从酸性部位则得到代表 B 环结构的苯甲酸衍生物。所得产物较多的保留原来结构的特征，对结构阐明更有说服力。有时这些降解产物是未知的，但与谱学研究及合成研究相结合，阐明其结构比原来的结构要容易得多。

(4) 研究实例

[例 1] 补骨脂甲素(corylifolin)和补骨脂乙素(corylifolinin)的结构研究。

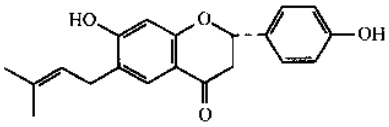
补骨脂甲素、补骨脂乙素是从中药补骨脂中分得的两个黄酮类化合物，其中补骨脂乙素有增加冠状动脉流量和抑制 Hela 细胞的作用。

1) 补骨脂甲素。分子式 $C_{20}H_{20}O_4$，熔点 211～212℃，$[\alpha]_D^{20}$ −22.2°(EtOH)；UV λ^{EtOH}_{nm}:219,237,280,323(lgε 4.49、4.45、4.24、3.94)；镁粉-盐酸反应呈蓝紫色；补骨脂甲素在 10% 乙醇溶液中室温放置可生成查尔酮；从其紫外光谱带Ⅱ，带Ⅰ的位置及强度，以及具有光学活性和遇碱开环生成查尔酮等特性，可推定其为双氢黄酮类化合物。

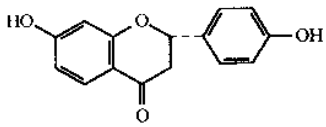
其分子式除构成一般双氢黄酮类的片段外，尚余—C_5H_9 残基；其在 Pd/C 催化下氢化得二氢化物，臭氧化生成丙酮，表明该残基为 γ，γ-二甲基烯丙基；其以氢氧化钾熔融得间苯二酚、对-羟基苯甲酸和带有 C_5H_9 残基的苯乙酮衍生物，揭示 B 环具有 4′-OH 和 γ，γ-二甲基烯丙基取代在 A 环上；带有—C_5H_9 残基的苯乙酮衍生物的^{1}H-NMR在 δ 7.27 和 6.22 各有 1 个单峰芳香质子，表明芳香质子处于对位，而该化合物为 2,4-

二羟基-5-(γ,γ-二甲基烯丙基)-苯乙酮,该推定经合成得到证明。因此补骨脂甲素的结构为7,4′-二羟基-6-(γ,γ-二甲基烯丙基)-双氢黄酮。

C-2的绝对构型由补骨脂甲素与绝对构型已知物(2S)——甘草苷元(liquiritigenin)的旋光谱比较而推定,两者的旋光谱曲线类似,在325～375 nm区是正Cotton效应,因此补骨脂甲素的构型应与甘草苷元相同,为2S型。

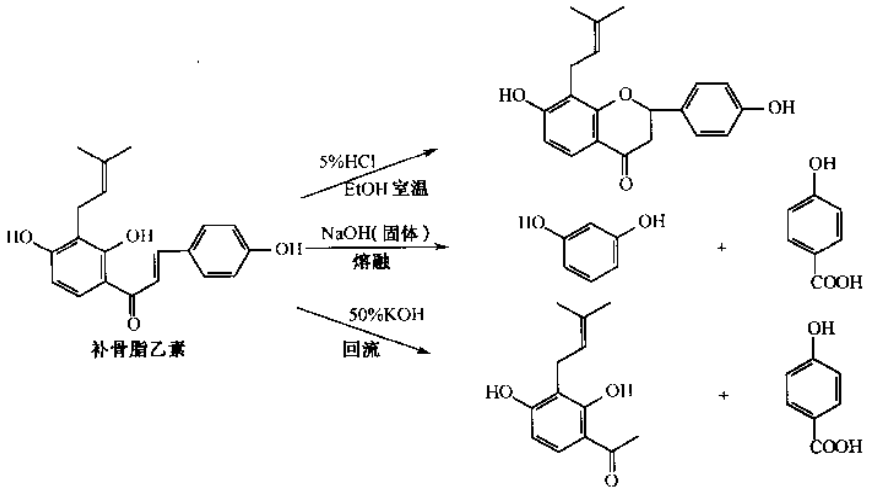


补骨脂甲素

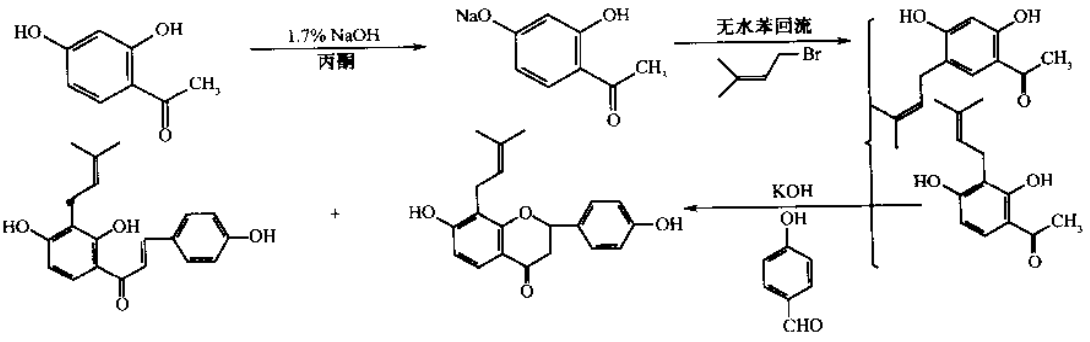


甘草苷元

2) 补骨脂乙素。分子式$C_{20}H_{20}O_4$,熔点166～167℃,无光学活性;UV λ^{EtOH}nm:230(sh,lgε 4.16),371(lgε 4.16);呈现典型的查尔酮紫外光谱特征。其在5% HCl乙醇溶液中闭环生成消旋双氢黄酮,也证明其为查尔酮化合物;经臭氧化和氢化分别得到丙酮和二氢化物;固体碱熔融得间苯二酚和对-羟基苯甲酸;溶液碱分解除得到对-羟基苯甲酸外,还得到具有C_5H_9取代基的苯乙酮衍生物,该衍生物的^{1}H-NMR在δ 7.45和6.37显示1对AB型质子峰(J=9),表明两个芳香质子处于邻位,应为2,4-二羟基-3-(γ,γ-二甲基烯丙基)-苯乙酮,则补骨脂乙素的结构为2′,4′,4-三羟基-3′-(γ,γ-二甲基烯丙基)-查尔酮。



3) 补骨脂乙素及其降解产物的合成。2,4-二羟基苯乙酮的单钠盐,悬浮于无水苯中与1-溴代异戊二烯加热回流19 h,得到补骨脂甲素和乙素的碱分解产物即具有—C_5H_9取代基的苯乙酮衍生物;将其分离后,以乙素的苯乙酮衍生物与对羟基苯甲醛在强碱条件下缩合,可得补骨脂乙素及其闭环物,进一步证明了补骨脂乙素的结构。



[例 2] 黄芩(*Scutellaria baicalensis* Georgi)中两个黄酮化合物的结构研究。

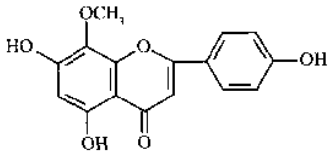
1) 化合物Ⅰ。淡黄色针晶,熔点 300~302℃(dec);$FeCl_3$ 和 Mg-HCl 反应呈阳性,Gibbs 和 $SrCl_2$ 反应呈阴性。元素分析 $C_{16}H_{12}O_6$,计算值(%):C 64.00,H 4.21;实测值 C 63.82,H 4.21。MS m/z(%):300(M^+ 55.6),285(100),118(19.4)。

UV λ_{max}nm:MeOH(277,328);NaOAc(284,390);$AlCl_3$(264 sh,284,312,353,400);NaOMe(284,300,400)。IR $\nu_{max}^{KBr}cm^{-1}$:3430,3200,1660,1610,1580

^{1}H-NMR(DMSO-d_6)δ(ppm):3.82(3H, s),6.20(1H, s),6.68(1H, s),6.87(2H, d, J=9Hz),7.81(2H, d, J=9Hz),12.35(1H, s)。^{13}C-NMR(DMSO-d_6)δ(ppm):163.8(C-2),102.9(C-3),182.1(C-4),149.7(C-5),99.1(C-6),157.2(C-7),127.9(C-8),156.5(C-9),103.0(C-10);121.5(C-1′),128.5(C-2′),116.3(C-3′),161.5(C-4′),116.3(C-5′),128.5(C-6′);61.1(—OCH_3)。

根据 UV 光谱、显色反应及^{1}H-NMR(δ 6.87 和 7.81 处各有两个 H 的 d 峰且 J=9Hz)推定该化合物为 5,7,4′-三羟基黄酮类化合物。Gibbs 反应呈阴性表明无 8-H,$SrCl_2$ 反应呈阴性表明无邻二酚羟基。IR 光谱显示有 OH(3400 cm^{-1}、3200 cm^{-1}),C═O(1660 cm^{-1})及 Ar(1610,1580 cm^{-1})。MS:m/z 300(M^+),285($M-CH_3$)$^+$,118(C_8H_6O)是由 B 环产生的碎片离子。

^{1}H-NMR 3.82 ppm 处的信号示 A 环有一个—OCH_3,6.20 ppm 处的信号示有 H-6,6.68 ppm 处的信号示有 H-3,6.87 ppm 处的信号示有 H-3′,H-5′,7.81 ppm 处的信号示有 H-2′,H-6′,12.35 ppm 处的信号示有 5-OH(形成分子内氢键)。^{13}C-NMR示为黄酮骨架碳的归属。综合上述结果,推定化合物Ⅰ为 5,7,4′-三羟基-8-甲氧基黄酮。其结构如下:



5,7,4′-三羟基-8-甲氧基黄酮

2) 化合物Ⅱ。淡黄色针晶,熔点 228~230℃。$FeCl_3$ 反应呈红紫色,Mg-HCl 反应呈红色,Gibbs 反应呈蓝色,$SrCl_2$ 反应呈阴性。元素分析 $C_{16}H_{14}O_6$,计算值(%):C 63.58,H 4.59;实测值(%):C 63.58,H 4.64。MS:m/z 302(M^+),120(C_8H_8O)。

UV λ_{max}nm (lgε):MeOH 293(4.23),331(3.68);NaOMe 247(4.30),329(4.44);NaOAc 294 (4.07),330(4.19);$AlCl_3$ 225(4.42),300sh(4.12),316(4.21),394(3.41);$AlCl_3$/HCl 225(4.47),314(4.32), 394(3.41)。IR ν_{max}^{KBr} cm^{-1}:3500(OH),1640(C═O)。

ORD(c0.001,MeOH):$[\phi]_{300\ nm}$:−10 744($tr.$),$[\phi]_{268\ nm}$:+13 358($pk.$)

^{1}H-NMR(DMSO-d_6)δ(ppm):2.80(1H, d, J=4.0Hz, *cis*-C_3—H),3.10(1H, d, J=12.0Hz, *trans*-C_3—H),3.72 (3H, s, —OCH_3),5.42(1H, dd, J=12.0, 4.0Hz, C_2—H),6.00(1H, s, C_8—H),6.83(2H, d, J = 9.0Hz, $C_{3'}$, 5′—H), 7.34 (2H, d, J = 9.0Hz, $C_{2'}$, 6′—H), 12.20 (1H, s, C_3—OH)。^{13}C-NMR(DMSO-d_6)δ(ppm):78.4(C-2),42.1(C-3),196.8(C-4),155.0(C-5),129.0(C-6),159.4(C-7),95.1(C-8),157.6(C-9),102.0(C-10);129.0(C-1′),127.9(C-2′),115.2(C-3′),157.9(C-4′),115.2(C-5′),127.9(C-6′),59.9(—OCH_3)。

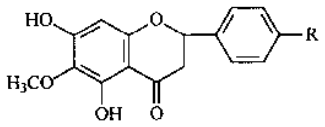
根据 UV 光谱和^{1}H-NMR δ 2.80 ppm(1H,d,J=4.0Hz,*cis*-C_3—H),3.10(1H,d,J=12.0Hz,*trans*-C_3—H),5.42(1H, dd, J=12.0, 4.0Hz, C_2—H)与显色反应以及 ORD 推定该化合物为二氢黄酮类化合物。

MS:m/z 302(M^+)为分子离子峰,m/z 120(C_8H_8O)是由 B 环裂解而来的碎片。再由^{1}H-NMRδ 3.72 ppm 处的 OCH_3 信号,6.00 ppm 处的孤立质子信号及 B 环上的 AA′BB′型的四个质子(6.83 ppm 和 7.34 ppm)推定 A 环有两个—OH,1 个—OCH_3,B 环有 4′-OH。

A 环的取代样式由 Gibbs 反应呈阳性,$SrCl_2$ 反应呈阴性以及在测定 UV 光谱时加入 NaOMe、NaOAc、

$AlCl_3$ 及 $AlCl_3$-HCl 时吸收峰位移值，推定为 5,7-二羟基-6-甲氧基。该推定可由 ^{13}C-NMR得到证实，化合物Ⅱ的 ^{13}C-NMR与二氢木蝴蝶素 A 的 ^{13}C-NMR比较，两者 A 环碳的化学位移几乎一致，两者 B 环碳的化学位移因前者比后者多 1 个 4′-OH 而有所不同。二氢木蝴蝶素 A 的 ^{13}C-NMR为：78.1(C-2)，42.0(C-3)，196.1(C-4)，154.8(C-5)，129.0(C-6)，159.3(C-7)，94.9(C-8)，157.5(C-9)，101.7(C-10)；138.5(C-1′)，126.2(C-2′)，128.2(C-3′)，128.1(C-4′)，128.2(C-5′)，126.2(C-6′)，59.7(OCH_3)。

综合上述结果，推定化合物Ⅱ为 5,7,4′-三羟基-8-甲氧基二氢黄酮。其结构如下：

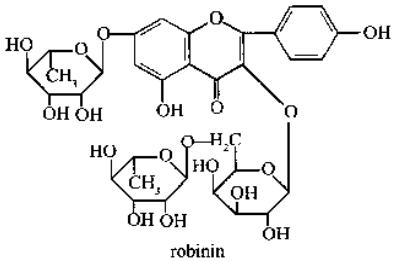


5,7,4′-三羟基-6-甲氧基二氢黄酮　R=OH

二氢木蝴蝶素 A　R=H

3．黄酮苷类的结构研究

在自然界中黄酮类化合物大量地以苷类的形式存在，多数黄酮苷元通过氧原子与糖连接而生成苷，称为 *O*-苷(如黄芩苷 baicalin)；部分黄酮苷元以碳与糖相连而构成苷，称为 *C*-苷(如葛根苷 puerarin)。若以苷元所连接的糖的数量来区分，又可分为单糖苷(如 baicalin、puerarin)、双糖苷(如橙皮苷 hesperidin)、三糖苷(如刺槐苷 robinin)等。



robinin

由于黄酮苷类中至少含有 1 分子糖，电子轰击(EI)质谱很难获得其分子离子峰，可改用场解吸(FD)质谱或快原子轰击(FAB)质谱。若仍有困难可将其全甲基化使分子的热稳定性和挥发性增加后再测定。从 ^{1}H-NMR和 ^{13}C-NMR谱中，糖的质子在 δ 3.0～6.0 ppm 区域内，碳在 δ 60～105 ppm 区域内有吸收峰，可直接由苷的 ^{1}H-NMR和 ^{13}C-NMR谱中糖质子和碳的数目得知苷分子由几个糖组成，进一步解析还能获得糖的结构及苷元连接方式的信息。

黄酮苷类的结构测定，包括黄酮苷元的结构测定、糖的结构测定及糖与苷元连接结构的测定。苷元的结构测定上面已有所叙述；黄酮苷类中的绝大多数糖都是已知的，且糖的种类也不多，糖的结构测定通常是对已知糖进行鉴定。因此，黄酮苷类的结构测定主要是研究糖与苷元的连接结构，即对苷化位置和苷的构型进行阐明。

(1) 苷的水解

黄酮碳苷类在一般水解条件下不会水解，通常把不能被酸水解作为鉴别碳苷的证据之一；氧苷可以被酸和某些专一性酶水解，适当地控制水解条件可达到完全水解或部分水解的目的。酸水解是实验室的常用方法。一般采用硫酸、盐酸、乙酸及甲酸等，酸的种类与浓度及温度、反应时间的选择，由水解的目的和苷的结构决定。

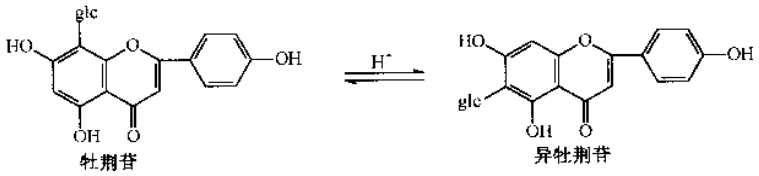
对黄酮苷类进行完全水解的常规方法之一为：将苷溶于或悬浮于 95% 乙醇中，加等体积 2mol/L HCl 水溶液，在冷凝管顶端加一个 N_2 气球，使反应液保持在 N_2 环境中，以防止苷元的氧化；然后加热回流直至完全水解(水解是否完全，可用薄层、聚酰胺膜或纸层析检查)，反应液减压蒸去乙醇后析出苷元，析出苷元的反应液再减压蒸去盐酸，以水溶解后，通过一根小的聚酰胺柱，不吸附部分供糖的鉴定用，吸附部分可进一步分

离苷元。

若对黄酮苷类进行部分水解，可改用 0.5mol/L HCl，在室温下或控制加热时间而进行水解。例如，山柰酚-3-*O*-β-D-芹菜糖-7-*O*-α-L-鼠李糖苷的水解，在 0.5mol/L HCl 中加热 2 min(100℃)可使 3-芹菜糖水解；若用 5% H_2SO_4 加热 3h 可完全水解；部分水解反应条件可配合薄层检查摸索。有机酸如 10% 乙酸或甲酸对控制部分水解更方便，反应较温和，尤其对黄酮寡糖苷的部分水解，可定量地水解寡糖中的一个糖或两个糖，而其他糖不受影响。

黄酮苷类的结构对水解难易(即水解速率)有影响；糖的种类和连接在黄酮母核上的位置会造成水解速率的差异。例如，7-*O*-葡萄糖醛酸苷、7-*O*-葡萄糖苷和 7-*O*-鼠李糖苷在 1mol/L HCl 中 100℃加热水解，其完全水解的时间为 180 min、25 min 和 5 min，表明其水解速率为葡萄糖醛酸＜葡萄糖＜鼠李糖。又如，槲皮素-3-*O*-葡萄糖苷在上述反应条件下 4～6 min 即可完全水解，而槲皮素-7-*O*-葡萄糖苷则需要 20～25 min。在双糖苷、三糖苷等寡糖苷中，可利用苷中糖的水解速率差别和苷化位置的不同而控制部分水解。

酸水解的缺点是有时会发生副反应，常见的副反应有：查尔酮苷水解后产生发苷元是查尔酮与其闭环生成物双氢黄酮的混合物；碳苷在常规酸水解条件下发生 Wessely-Moser 重排，6-或 8-*C*-黄酮苷可互变生成 8-和 6-*C*-黄酮苷的混合物，如在常规水解条件下，牡荆苷(vitexin)或异牡荆苷(isovitexin)互变异构生成二者的混合物。



酶水解是一种温和、专一、简便的方法。随着各种酶的商品化，其应用将更加广泛。常用的水解酶有 β-葡萄糖苷酶、β-葡萄糖醛酸酶、α-鼠李糖苷酶和花色苷酶等。其中苦杏仁酶是容易获得的 β-葡萄糖苷酶的半成品，其除了可水解 β-葡萄糖苷外，还可水解其他 β-糖苷(如 β-半乳糖苷、β-木糖苷等)。常用的方法为：将样品溶于适量的缓冲液中，加过量的水解酶，在 37℃放置过夜，反应结束后进行适当处理即可。β-葡萄糖苷酶和 β-葡萄糖醛酸酶在 pH＝5.0 乙酸盐缓冲液中反应，花色苷酶在 pH＝3.95 乳酸盐缓冲液或 pH＝4.0 乙酸盐缓冲液中反应等。

专一性酶水解可有效控制部分水解并可测定苷键及糖-糖连接的构型，这对研究寡糖苷尤其重要。例如，山柰酚-3-*O*-(4″-咖啡酰)昆布双糖-7-*O*-鼠李糖苷[kaempferol-3-*O*-(4″-caffeoyl) laminaribioside-7-*O*-rhamnoside]经 α-鼠李糖苷酶水解得到山柰酚-3-*O*-(4″-咖啡酰)昆布双糖苷，再经纤维素酶(cellulase)水解失去 1 分子葡萄糖，生成山柰酚-3-*O*-(4″-咖啡酰)葡萄糖苷，由此证明咖啡酰残基连接在与苷元最近的一个糖上，并阐明了糖的连接顺序和连接位置。

表 13-4 黄酮苷类中常见单糖

中文名	英文名	表达符号
D-葡萄糖	D-glucose	D-Glu
D-半乳糖	D-galactose	D-Gal
D-甘露糖	D-mannose	D-Man
D-葡萄糖醛酸	D-glucuronic acid	D-Glu A
D-半乳糖醛酸	D-galacturonic acid	D-Gal B
L-鼠李糖	L-rhamnose	L-Rha
L-阿拉伯糖	L-arabinose	L-Ara
D-木糖	D-xylose	D-Xyl
D-芹菜糖	D-apiose	D-Api
D-阿洛糖	D-allose	D-All

(2) 糖的鉴定

黄酮苷类中的糖绝大多数是已知的，常见的单糖、二糖、三糖分别列于表 13-4、表 13-5 及表 13-6。可将酸水解液的水溶部分适当处理(如聚酰胺层析)后或直接进行纸层析鉴定，同时以已知糖的标准品对照，常用的展开系统有正丁醇-乙酸-水(4∶1∶5)、正丁醇-乙酸-乙醇-水(4∶1∶1∶2)、水饱和的苯酚、正丁醇-吡啶-乙醇-水(4∶1∶1∶1)、乙酸乙酯-吡啶-水(12∶5∶4)等，以对茴香胺(*p*-anisidine)盐酸盐显色(1g 对茴香胺盐酸盐与 0.1g 亚硫

酸氢钠溶于 10 mL 甲醇中，再以正丁醇稀释至 100 mL）。

表 13-5　黄酮苷类中常见二糖

中文名	英文名	表达符号
芸香糖	rutinose	α-L-Rha-(1-6)-D-Glu
新橙皮糖	neohesperidose	α-L-Rha-(1-2)-D-Glu
刺槐双糖	rungiose	α-L-Rha-(1-3)-D-Glu
洋槐双糖	robinobiose	α-L-Rha-(1-6)-D-Gal
毒蚕豆糖	vicianose	α-L-Ara-(1-6)-D-Glu
香豌豆糖	lathyrose	β-D-Xyl-(1-2)-D-Gal
山布双糖	sambubiose	β-D-Xyl-(1-2)-D-Glu
槐糖	sophorose	β-D-Glu-(1-2)-D-Glu
昆布双糖	laminaribiose	β-D-Glu-(1-3)-D-Glu
龙胆双糖	gentiobiose	β-D-Glu-(1-6)-D-Glu
乳糖	lactose	β-D-Gal-(1-4)-D-Glu
海葱双糖	scillabiose	β-D-Glu-(1-4)-L-Rha
麦芽糖	maltose	α-D-Glu-(1-4)-D-Glu
α-L-鼠李糖基-(1-2)-D-半乳糖		α-L-Rha-(1-2)-D-Gal
β-D-葡萄糖基-(1-4)-D-甘露糖		β-D-Glu-(1-4)-D-Man
β-D-阿洛糖基-(1-2)-D-葡萄糖		β-D-All-(1-4)-D-Glu
β-D-葡萄糖基-(1-6)-D-半乳糖		β-D-Glu-(1-6)-D-Gal

表 13-6　黄酮苷类中常见三糖

中文名	英文名	表达符号
2′-鼠李糖基芸香糖	2′-rhamnosyl rutinose	α-Rha-(1-2)-α-Rha-(1-6)-Glu
2′-葡萄糖基龙胆双糖	2′-glucosylgentiobiose	β-Glu-(1-2)-β-Glu-(1-6)-Glu
槐三糖	sophorotriose	β-Glu-(1-2)-β-Glu-(1-2)-Glu
	sorborose	β-Glu-(1-6)-β-Glu-(1-4)-Glu
鼠李三糖	Rhamninose	α-Rha-(1-4)-α-Rha-(1-6)-Gal
意鼠李苷糖	sugar of alaternin	α-Rha-(1-3)-α-Rha-(1-6)-Gal
2^G-芹菜糖基芸香糖	2^G-apiosylrutinose	β-Api-(1-2)-[α-Rha-(1-6)-Glu]
2^G-葡萄糖基芸香糖	2^G-glucosylrutinose	β-Glu-(1-2)-[α-Rha-(1-6)-Glu]
2^G-鼠李糖基龙胆双糖	2^G-rhamnosylgentiobiose	α-Rha-(1-2)-[β-Glu-(1-6)-Glu]
2^G-葡萄糖基龙胆双糖	2^G-glucosylgentiobiose	β-Glu-(1-2)-[β-Glu-(1-6)-Glu]
2^{Gal}-鼠李糖基刺槐双糖	2^{Gal}-rhamnosylrobinobiose	α-Rha-(1-2)-[α-Rha-(1-9)-Gal]
3^G-葡萄糖基新橙皮糖	3^G-glucosylneohespendose	β-Glu-(1-3)-[α-Rha-(1-2)-Glu]
4^G-鼠李糖基新橙皮糖	4^G-rhamnosylneohesperidose	α-Rha-(1-4)-[α-Rha-(1-6)-Gal]

气相层析鉴定也很方便，可将酸水解液的水溶液部分减压抽干后制备三甲基硅醚衍生物（5 mg 样品溶于 0.5 mL 无水吡啶中，加 0.2 mL 六甲基二硅氨烷和 0.1 mL 三甲氯硅烷，密封 5 min，减压抽干即可），或制备全甲基化衍生物，然后进行气相层析鉴定，并以已知糖的相应衍生物对照。

糖的定量测定，以前均以制备糖脎或腙的衍生物以重量法测定，该法消耗样品量很大，然后 Pridham 发展了一种微量测定方法，把样品与已知糖定量地点在滤纸上，以适合展开剂展开后用光密度法测定。

近年来由于 ^{1}H-NMR 和 ^{13}C-NMR 的发展应用，可不经水解直接从核磁共振谱的糖质子区（δ 3.0～6.0）和糖碳区（δ 60～105）中观察糖质子与糖碳的数目而推定糖的多少。该法简单可靠，脱氧糖的脱氧碳及其质子在较高场，如鼠李糖的甲基在 δ＜1.5 区有一个双峰，在 δ＜20 区有一个甲基碳，可利用这些特征直接推定糖的性质及数目。

(3) 苷化位置的测定

黄酮苷类的 ^{1}H-NMR 和 ^{13}C-NMR 可以直接测定苷化位置。利用苷化位置的不同所引起的糖端基质子（H-1″）化学位移差异，可获知苷化位置的信息，3-*O*-葡萄糖苷的 H-1″在 δ～5.8，而 4′-*O*-葡萄糖苷、5-*O*-葡萄糖苷及 7-*O*-葡萄糖苷的 H-1″则在 δ～5.0；虽然 3-和 7-*O*-鼠李糖苷的 H-1″也出现在附近区域（δ 5.0～

5.3),但 α-L-鼠李糖的 H-1″与 H-2″为横键偶合($J=\sim2$Hz),易与前者的竖键偶合区别。

在^{13}C-NMR 中,苷元的苷化碳一般向高场位移 2 ppm 左右(与苷元比较,下同)。但不同的苷化位置使邻、对位碳的位移有明显差异,黄酮醇的 3-*O*-苷使 C-2 信号向低场位移~9 ppm 而成为 3-*O*-苷的明显特征。黄酮的 5-*O*-苷使 5-OH 与羰基的缔合破坏,邻、对位碳也明显的低场位移(3.0~4.5 ppm),C 环的 C-2、C-4 分别向高场位移~3.0 ppm 和~6.0 ppm,而 C-3 向低场位移~2.5 ppm;7-*O*-苷和 4′-*O*-苷则分别使邻、对位碳的向低场位移 0.5~1.0 ppm 和 1.5~1.8 ppm。

通常测定苷化位置的化学方法是将苷全甲基化后水解,或者测知苷的游离酚羟基位置后水解,然后测定水解后新生成的羟基位置,该位置即为苷化位置。苷的游离酚羟基和水解生成的羟基位置,可用羟基诊断试剂和特征颜色反应、乙酰化后使邻对位质子的 NMR 化学位移改变等方法确定。具体以山柰酚-3-*O*-β-D-芹菜糖-7-*O*-α-L-鼠李糖苷为例,介绍确定苷化位置常用的测定方法:山柰酚-3-*O*-β-D-芹菜糖-7-*O*-α-L-鼠李糖苷遇 $ZrOCl_2$ 试剂呈黄色,加柠檬酸后黄色消退,表明有游离 5-OH 存在,无 3-OH。其紫外光谱加入 NaOMe 后带Ⅰ向长波移动 44 nm;加入 NaOAc 后带Ⅰ向长波移动 19 nm,带Ⅱ无明显移动,表明有 4′-OH,无 7-OH。比较其在 NaOAc 与 NaOAc-H_3BO_3,$AlCl_3$ 与 $AlCl_3$-HCl 中的紫外光谱,带Ⅰ、带Ⅱ都无明显的长波移动,表明无邻位二羟基存在。因此,该苷只有两个游离羟基 4′-OH 和 5-OH。以 0.5mol/L HCl 在 100℃水解 2 min,得单糖苷和 D-芹菜糖。单糖苷遇 $ZrOCl_2$ 试剂呈黄色,加柠檬酸后不退色,表明有 3-OH,则芹菜糖应苷化在 3 位。若将苷和单糖苷分别以 5% H_2SO_4 在 100℃水解 3h,均得到山柰酚和鼠李糖,表明除芹菜糖苷化在 3 位外,鼠李糖应苷化在 7 位。

在寡糖苷中,除了糖与苷元连接(苷化)位置的测定外,还要确定糖-糖间连接的位置。可选用专一性的酶将寡糖从苷元上水解下来,多数的寡糖是已知的,若将寡糖鉴定,即可确定糖-糖连接的位置及其构型。另一种方法是像研究多糖结构一样,选择专一性酶将糖逐个水解下来,分别测定其连接位置及构型。^{13}C-NMR 可直接提供糖-糖连接的信息,若与相应的单糖苷比较糖-糖连接碳都产生一定的低场位移,根据位移值可推定糖-糖连接位置。如芸香糖苷[Rha-(1″-6″)-Glu]中,葡萄糖的 C-6″低场位移 4.5~6.0 ppm;而新橙皮糖苷[Rha-(1″-2″)-Glu]中,葡萄糖的 C-2″低场位移 2.6~3.9 ppm;若两个葡萄糖(1″-2″)连接(如槐糖)则 C-2″低场位移 8 ppm,并且使邻近碳 C-1″高场位移 2.9 ppm。这些光谱学变化可帮助推定糖-糖连接结构。

(4) 端基碳的构型

端基碳有 α 和β 两种构型,多数葡萄糖苷、半乳糖苷、葡萄糖醛酸苷和木糖苷为 β 构型;多数阿拉伯糖苷和鼠李糖苷则为 α 构型。

苷的端基碳构型过去常采用测定苷与苷元摩尔旋光度差与相应糖的甲基苷摩尔旋光度比较而推定。以葡萄糖苷为例,若$[M]_D$苷-$[M]_D$苷元的值与甲基-α-D-葡萄糖苷的$[M]_D$(305.80°)接近,则苷的构型为 α 型;若与甲基-β-D-葡萄糖苷的$[M]_D$(-61.85°)接近,则苷的构型为 β 型。依此类推,鼠李糖苷则将$[M]_D$苷-$[M]_D$苷元的值与甲基-α-L-鼠李糖苷的$[M]_D$(-111°)和甲基-β-L-鼠李糖苷的$[M]_D$(+170°)比较则可推定其构型。

酶水解也是一种常用的测定端基碳构型的方法,被 β-葡萄糖苷酶(如苦杏仁酶)水解的苷为 β 型;被 α-鼠李糖苷酶水解的鼠李糖苷为 α 型等。

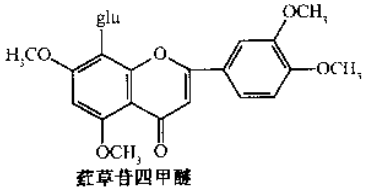
以^{1}H-NMR 和^{13}C-NMR 测定端基碳构型极为方便。在 β-苷中糖的端基质子(H-1″)与 H-2″为竖键偶合,偶合常数较大(5~8Hz),H-1″以双峰出现;α-苷的 H-1″与 H-2″为横键偶合,偶合常数较小(~2Hz),H-1″信号为宽单峰;因此^{1}H-NMR很容易区别 β-苷和 α-苷。但在 7-*O*-苷中,若 6,8 位无较大的取代基,糖可绕黄酮母核旋转,H-1″受到不同的芳香核屏蔽,使得 H-1″信号变成多重峰,难以辨别偶合常数的大小。^{13}C-NMR也可提供区别 β-苷和α-苷的信息,β-苷的端基碳 C-1″在较低场(100~120 ppm),α-苷则在较高场(95 ppm)。因此,通过^{1}H-NMR和^{13}C-NMR的测定,可以直接推定端基碳构型,比经典方法简单而可靠。

(5) *C*-苷的结构测定

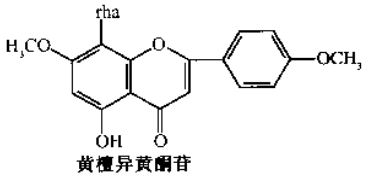
近几年来,由于分离技术的进步,从天然界分离得到的黄酮碳苷数量猛增,除了常见的黄酮-*C*-苷和黄酮醇-*C*-苷外,查尔酮-*C*-苷、双氢黄酮-*C*-苷和双氢黄酮醇-*C*-苷等也相继发现。

黄酮碳苷在酸水解过程中除上述 Wessely-Moser 重排之外，糖杂环也产生异构化，*C*-阿拉伯吡喃糖苷生成 *C*-阿拉伯吡喃糖与呋喃糖苷的混合物。因此，*C*-苷经酸水解后会变成若干异构体的混合物。在分离与结构研究中，若与强酸长时间加热或接触，需要考虑这些异构化因素。

三氯化铁氧化可使某些碳苷的糖从苷元上断下来，但得到的糖有部分异构化。如荭草苷四甲醚(tetramethyl orientin)25 mg 与三氯化铁 0.2g 在 1.5 mL 水中加热回流 6h，反应物冷却后用 NaOH 调至 pH=8.0，析出棕色固体，离心除去；水液经脱盐(处理经过阳、阴离子交换树脂后的中性部分)，以纸层析检查为葡萄糖和阿拉伯糖(1:1)的混合物。但用类似方法处理黄檀异黄酮苷(volubilin)可以得到未异构化的鼠李糖。



荭草苷四甲醚



黄檀异黄酮苷



染料木素

上述处理均未获得相应的苷元，只得到相应的糖或部分糖异构化的混合物。采用氢碘酸和苯酚加热回流将糖与甲基同时脱去可得到去甲基苷元。例如，黄檀异黄酮苷 50 mg 与苯酚 300 mg 和氢碘酸(1 mL 相对密度 1.7)混合，137℃加热 7h，冷却后在搅拌下倒入 $NaHSO_3$ 水液中，析出棕黄色固体，经分离得到染料木素(genistein)。利用三氯化铁(2.5g)在水(25 mL)中加热氧化 8-*C*-半乳糖基-7,4′-二羟基双氢黄酮(aervanone，3g)，可得到 7,8,4′-三羟基双氢黄酮(1.4g)及半乳糖与来苏糖(lyxose)的混合物。该方法与前述荭草苷的三氯化铁氧化相比，只是改变三氯化铁、水及样品的比例，可使苷元在苷化位置羟基化，是阐明碳苷苷元和苷化位置的有效方法。

^{13}C-NMR 是判别 *C*-苷和 *O*-苷的简捷而可靠的手段。该法不必将糖从苷元上断下来而可直接测定 *C*-苷的结构，*C*-苷的端基碳(C-1″)在 δ 71～78 区域内，除脱氧糖的脱氧碳在高场区外，糖碳峰出现在 δ 60～82 之间。同时，苷元的苷化碳由 d 峰变为 s 峰，并向低场位移 6～11 ppm。*O*-苷的端基碳(C-1″)在较低场 δ 95～105区域内，与芳香碳重叠；苷元的苷化碳只有较小的位移(±2 ppm)，且均为 s 峰。

^{1}H-NMR 也可帮助区别 *O*-苷与 6-和 8-*C*-苷，后两者糖的 2″-*O*-乙酰基在特别高场：8-*C*-苷的 2″-*O*-乙酰基在 δ 1.70～1.75，6″-*O*-乙酰基在 δ 1.90～1.95，其他乙酰基则在 δ 2.00～2.10；6-*C*-苷的 2″-*O*-乙酰基在 δ 1.80，6″-*O*-乙酰基在 δ～2.0；*O*-苷的乙酰基均大于 δ 1.83。这些信息可用于区别 *O*-苷与 *C*-苷，还可帮助判定 *C*-苷的苷化位置。但 6-*C*-葡萄糖基黄酮苷中的 2″-*O*-苷化后，仍有高场乙酰基信号，这可能是 2″-*O*-苷和 2″-*O*-乙酰基一样，受到黄酮母核的屏蔽作用而出现在高场。在结构测定时要考虑这些例外。

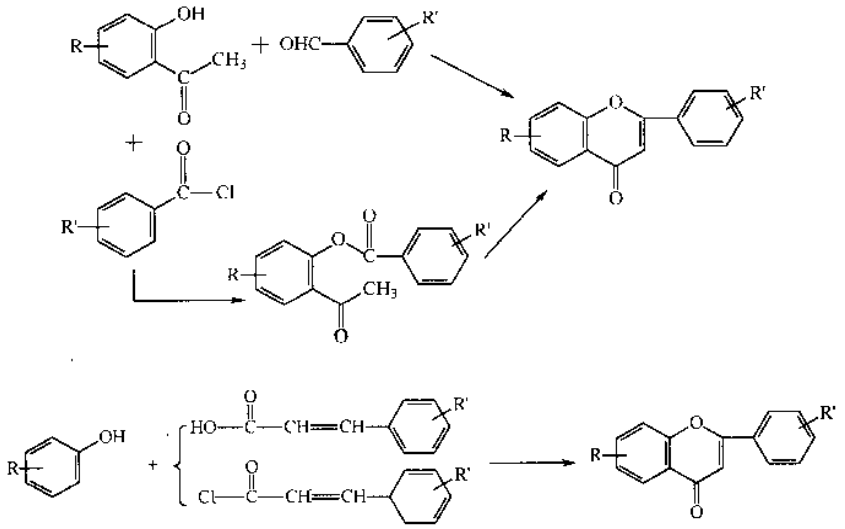
6-与 8-*C*-黄酮苷也可以用 CD 谱区别，在 250～275 nm 区域内，6-*C*-苷是正 Cotton 效应，8-*C*-苷是负 Cotton 效应。但 6-和 8-*C*-α-L-鼠李吡喃糖黄酮苷在 250～275 nm 区域内均为负 Cotton 效应；6,8-二-*C*-苷在此区域内有两个 Cotton 效应：正 Cotton 效应(263～275 nm)和负 Cotton 效应(250～262 nm)。

质谱的研究表明，全甲基化或全氘甲基化 *C*-苷的质谱对 *C*-苷的结构研究也很有帮助。

4. 黄酮类化合物的合成

黄酮类化合物的母核基本上可由下述两种途径合成：①一个 C_6C_2 单元与一个 C_6C_1 单元缩合，如 2-羟基苯乙酮衍生物与苯甲醛衍生物缩合或 2-羟基苯乙酮衍生物与苯甲酰氯衍生物生成酯后再分子内重排形成黄酮 C_6—C_3—C_6 母核；②一个单元 C_6C_3 与 C_6 单元缩合，如肉桂酸或肉桂酰氯衍生物与苯酚衍生物酰化，也可以生成黄酮母核。此外，还有很多类似的合成途径；由于 A 环、B 环、C 环的取代基对各种具体化合物的合成有一定影响，在这些合成路线的基础上，也出现了许多改良方法。以下主要以典型化合物的合成为例，阐

述黄酮化合物的一般合成路线。反应如下：

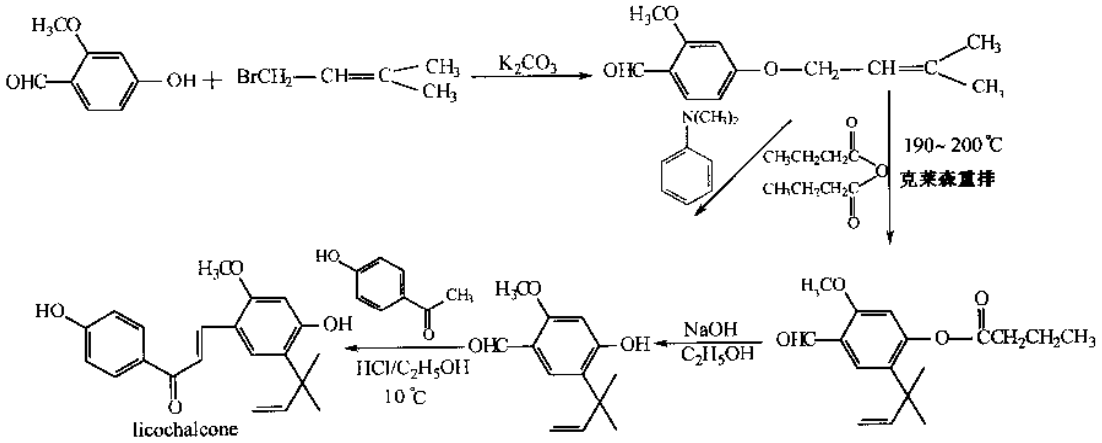


(1) 查尔酮类和双氢黄酮类的合成

查尔酮可作为合成各类黄酮的中间体，故查尔酮的合成是合成黄酮化合物的重要环节。上述两种合成黄酮化合物的途径均可用于查尔酮的合成，其中途径①较为常用。一般是将具有欲合成查尔酮A环结构的苯乙酮衍生物与具有B环结构的苯甲醛衍生物在强碱条件下醛酮缩合(如补骨脂乙素的合成)，或在强酸条件下缩合(如甘草查尔酮、licochalcone的合成)而成。其中以50%～60%KOH或NaOH催化，在0～20℃缩合较常用，但在酸、碱条件下可使查尔酮闭环进一步生成相应的双氢黄酮或者两者的混合物。

甘草查尔酮的全合成：合成甘草查尔酮的主要工作是制备该化合物的B环片段。中间体1在丁酸酐与二甲基苯胺作用下经克莱森重排和酯化生成中间体2，水解后得到B环片段，若没有丁酸酐酯化，克莱森重排的得率较低；然后将B环片段与A环片段对羟基苯乙酮在酸催化下缩合成甘草查尔酮。因该查尔酮的2′位无羟基，在酸催化缩合时不会进一步闭环生成双氢黄酮。

存在2′-羟基的查尔酮，在1%～2%的酸或碱中室温放置过夜，则闭环生成相应的双氢黄酮。若在2′,6′位同时具有羟基，可加速环合进程，如2′,6′-二羟基-4′,5′,4-三甲氧基查尔酮在pH=2的溶液中即能闭环生成相应的双氢黄酮。另外，查尔酮有3′位取代或有4-OH可抑制其闭环反应。反应如下：



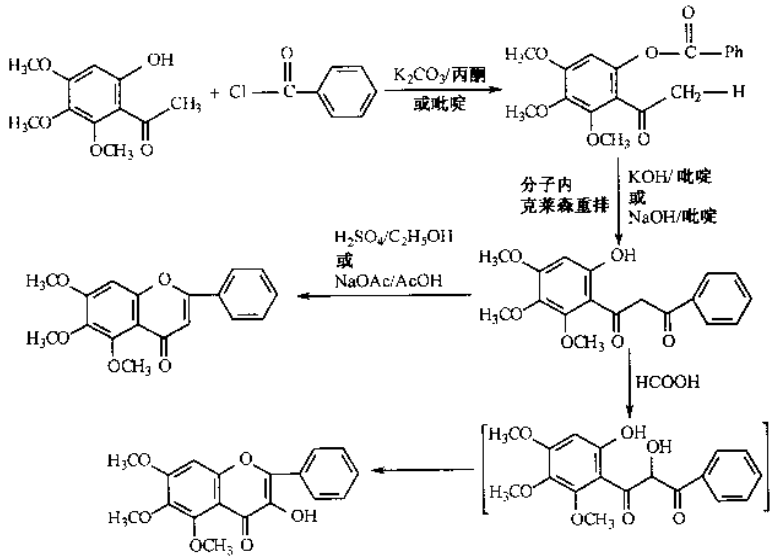
存在2′-羟基的查尔酮，在1%～2%的酸或碱中室温放置过夜，则闭环生成相应的双氢黄酮。若在2′,6′位同时具有羟基，可加速环合进程，如2′,6′-二羟基-4′,5′,4-三甲氧基查尔酮在pH=2的溶液中即能闭环生

成相应的双氢黄酮。另外，查尔酮有 3′位取代或有 4-OH 可抑制其闭环反应。

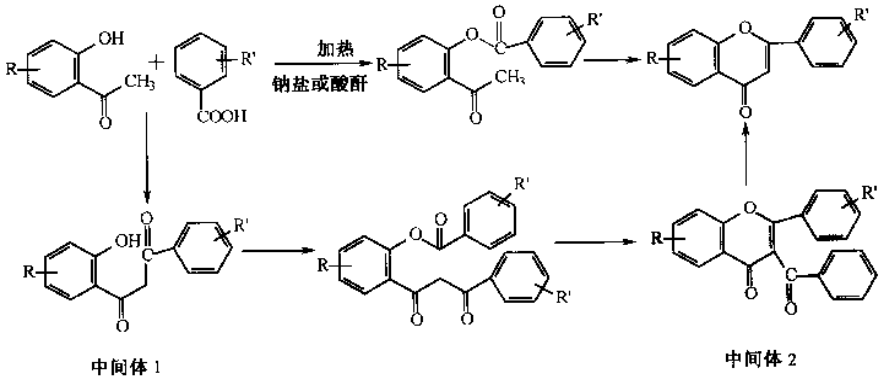
(2) 黄酮类和黄酮醇类的合成

由查尔酮或双氢黄酮脱氢可合成相应的黄酮化合物；双氢黄酮醇脱氢可获得相应的黄酮醇化合物。合成黄酮类、黄酮醇类化合物不一定要经过查尔酮、双氢黄酮或双氢黄酮醇中间体，可直接缩合而成，常用的合成方法如下：

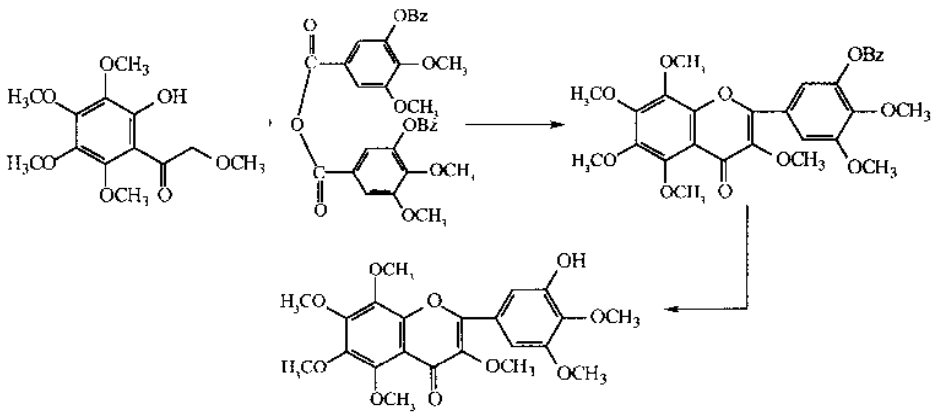
1) Baker-Venkatarama 法。以黄芩素(baicalein)三甲醚的合成为例。该法的关键是分子内克莱森重排，中间体在强碱——KOH 或 NaOH 的吡啶或苯或甲苯或乙醚溶液中处理，生成 β-二酮中间体，再以酸(如 H_2SO_4-EtOH)或弱碱(NaOAc-AcOH)处理则闭环生成黄芩素三甲醚；β-二酮以过氧甲酸处理，在羟基化的同时闭环生成 3-羟基黄芩素三甲醚，因此该法可延伸合成黄酮醇类。反应如下：



2) Allan-Robinson 合成。该法与上述 Baker-Venkatarama 法类似，将代表 A 环片段的苯乙酮衍生物与 B 环片段苯甲酸衍生物的钠盐或其酸酐，经酯化、重排、缩合一步可得到黄酮化合物；或者苯乙酮衍生物与 B 环苯甲酸衍生物在三甲基胺或吡啶催化下加热，也可得到同样产物，且产量更高。该反应的副产物为中间体 1，其进一步酯化经缩合成中间体 2，中间体 2 经温和的碱水解又可得到黄酮化合物。反应如下：

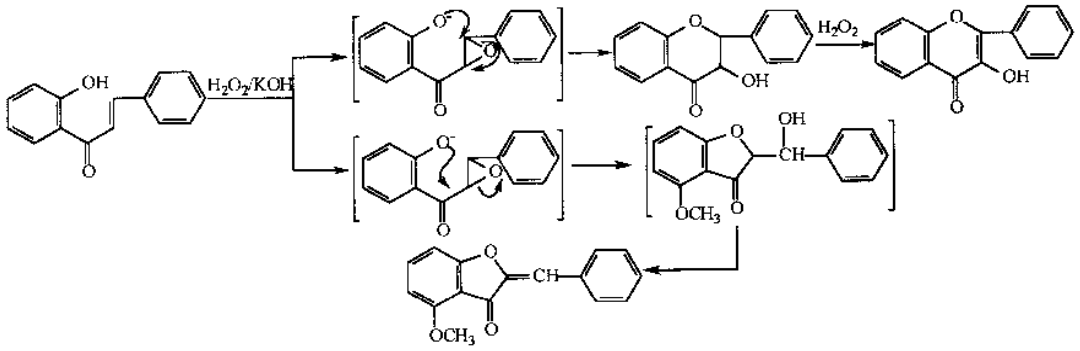


该法延伸也可合成黄酮醇类或其 3-甲醚，洋地黄黄酮(digicitrin)的合成就是一例，2-羟基-3,4,5,6-ω-五甲氧基苯乙酮与 4,5-二甲氧基-3-苄氧基苯甲酸酐加热缩合而生成 3,5,6,7,8,4′,5′-七甲氧基-3′-苄氧基黄酮，脱苄基和部分脱甲基后即生成洋地黄黄酮。反应如下：



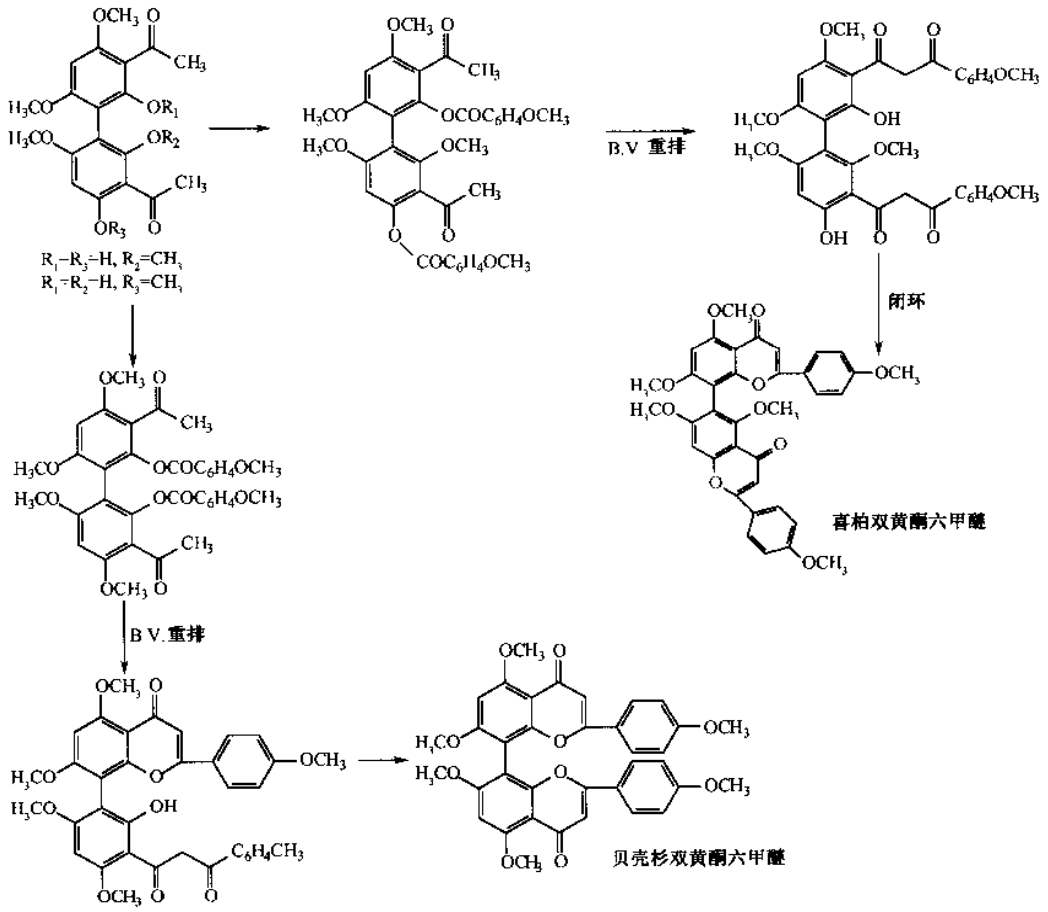
digicitrin

3) Algar-Flynn-Oyamada(AFO)合成。2′-羟基查尔酮用碱性过氧化氢氧化一步可得到相应的黄酮醇,其反应机理是经过查尔酮的环氧化物生成双氢黄酮醇,该法的副反应是亲核取代生成噢哼。取代基和反应温度对黄酮醇与噢哼生成的比例有一定影响:2 或 4-位具有羟基,6′-位无甲氧基的查尔酮,反应产物主要是黄酮醇;具有 6′-位甲氧基并缺少 2 或 4-位羟基,则生成黄酮醇与噢哼的混合物;高温对生成黄酮醇有利。AFO 的改良法可得到 20%～40%的黄酮醇,该法将多羟基查尔酮完全保护(2′-OH 除外),以 5%～30% H_2O_2 在 10%～20%NaOH 溶液中氧化 15 min 即可。反应如下:

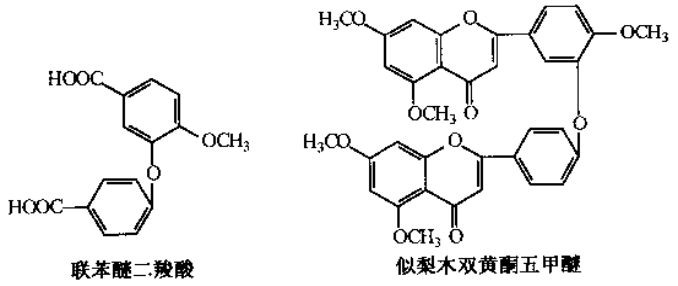


(3) 双黄酮类的合成

合成黄酮类常用的 Baker-Venkatarama 法,也可用于合成双黄酮类。只要将 A 环片段苯乙酮衍生物制备成联苯乙酮衍生物,然后采用 Baker-Venkatarama 法的酯化、重排和缩合,即可得到相应的双黄酮类化合物。例如,柏木双黄酮(cupressuflavone)六甲醚和贝壳杉双黄酮(agathisflavone)六甲醚的合成。反应如下:

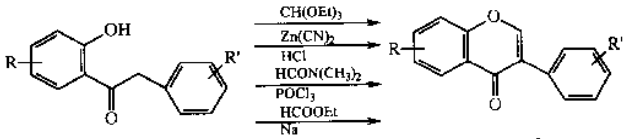


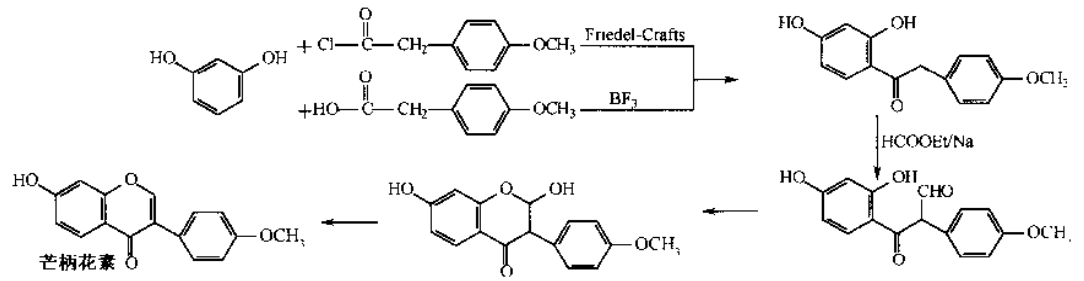
同样，若以联苯醚二羧酸与2-羟基-4,6-二甲氧基苯乙酮反应可制备 *O*-4′/*C*-3‴连接的双黄酮——似梨木双黄酮(ochnaflavone)五甲醚。



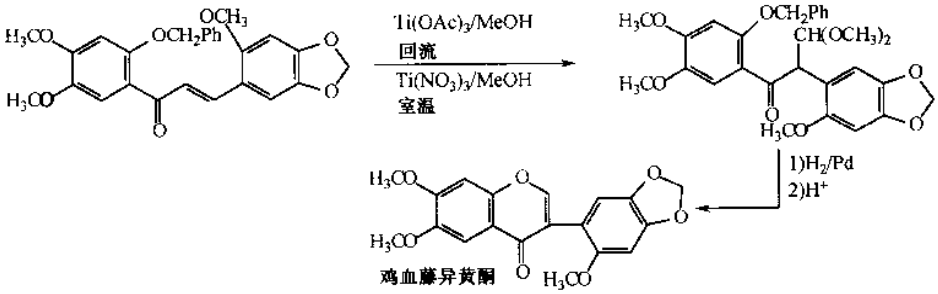
(4) 异黄酮类的合成

异黄酮的合成有很多方法，经典的方法是以苯基苄基酮的衍生物闭环而成。闭环剂的种类较多，如原甲酸三乙酯、氰化铁-盐酸、二甲基甲酰胺-三氯氧磷、甲酸乙酯-钠等，这些闭环剂对结构都有一定要求，如$CH(OEt)_3$闭环不适于苯基上有2,4,6-三羟基取代的化合物；二甲基甲酰胺-三氯氧磷只限于具有间苯二酚氧化方式的化合物等。甲酸乙酯法合成芒柄花素(formononetin)即为该合成方法的一例。反应如下：





有报道铊(Ⅲ)的乙酸盐和硝酸盐在甲醇中可把查尔酮转化成异黄酮，产量在30%～80%，反应条件温和，特别适用于制备具有次甲二氧基等较敏感基团的异黄酮化合物。硝酸铊比乙酸铊更有效，反应时间更短。该反应的机理为先生成缩醛中间体，脱苄基后由中等强度的酸处理而闭环生成异黄酮化合物，如鸡血藤异黄酮(milledurone)的合成。



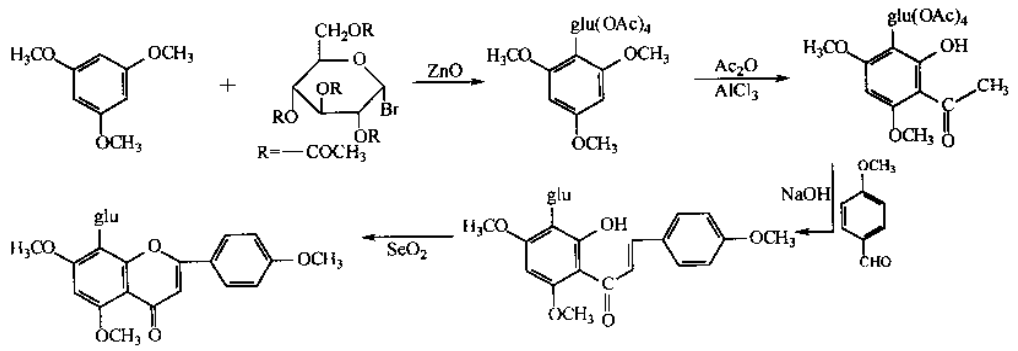
(5) 黄酮苷类的合成

黄酮苷类的合成路线与其苷元的合成类似。苷中的糖可看成是苷元氧原子上或芳香核上的一个取代基，只要合成 *C*-苷键和 *O*-苷键，其余部分的合成可以效仿苷元的合成路线。

黄酮碳苷与氧苷的合成方法也是类似的，其均是以溴代糖的乙酰化物(acetobromosugar)为原料，在催化剂的作用下，与苷元或合成苷元的片段苷化，生成 *C*-苷键或 *O*-苷键，进而合成黄酮碳苷或黄酮氧苷。其合成方法不同之处为合成 *C*-苷键和 *O*-苷键的催化剂不同，前者以氧化锌为催化剂，后者以氢氧化钾、银盐(Ag_2O 或 Ag_2CO_3)或汞盐[$Hg(CN)_2$ 和 $HgBr_2$]为催化剂。若以氧化锌或银盐、氢氧化钾作催化剂分别合成 *C*-苷和 *O*-苷，糖的端基碳构型会发生 Walden 翻转，即以 α-溴代糖乙酰化物为原料，以 ZnO 催化生成 β-*C*-苷；以银盐或氢氧化钾催化生成 β-*O*-苷。若以汞盐作为催化剂，有时无 Walden 翻转，如以 α-溴代-L-鼠李糖乙酰化物为原料，得到 α-*L*-鼠李糖-*O*-苷，但有时又有 Walden 翻转，如以 β-溴代-L-阿拉伯糖乙酰化物为原料，在吡啶中反应得到 α-L-阿拉伯糖-*O*-苷，而在苯中反应，得到 β-阿拉伯糖-*O*-苷，表明其 Walden 翻转与溶剂有关。

1) *C*-苷的合成。

8-*C*-苷的一般合成路线可用5,7,4′-三甲氧基牡荆苷(8-*C*-β-D-葡萄糖基-5,7,4′-三甲氧基黄酮)的合成



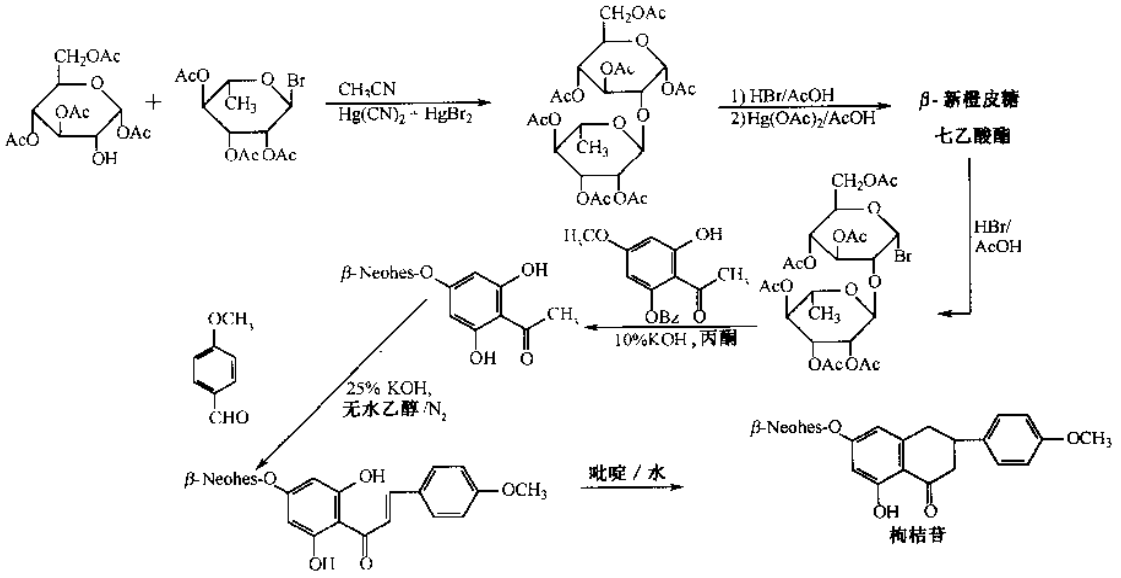
为代表。1,3,5-三甲氧基苯与四乙酰基-α-D-葡萄糖基溴在 ZnO 催化下以 70% 的产量生成 β-D-葡萄糖基-2,4,6-三甲氧基苯四乙酸酯，再经乙酸酐与无水三氯化铝酰化得到 3-β-D-葡萄糖基-2-羟基-4,6-二甲氧基苯乙酮四乙酸酯，后者在 NaOH 存在下与 4-甲氧基苯甲醛缩合生成 3′-β-D-葡萄糖基-2′-羟基-4,4′,6′-三甲氧基查尔酮，再经二氧化硒氧化脱氢得到 5,7,4′-三甲氧基牡荆苷。

查尔酮-C-苷可转化成异黄酮-C-苷，如 2′-乙酰氧基-4,4′-二甲氧基-(四乙酰基-β-D-葡萄吡喃糖基)查尔酮与铊(Ⅲ)硝酸盐在甲醇中反应，或与原甲酸三甲酯反应，然后水解，以很高的产量获得 7,4′-二甲氧基-葛根苷。在该反应中，两个中间体被分得，其证明了反应的历程。6-C-苷和 6,8-二-C-苷可用溴代糖乙酰化物与 5,7-二羟基黄酮在 ZnO 催化下直接获得，但产量较低。该法已经合成了许多 6-C-苷和 6,8-二-C-苷，如 6-C-芸香糖基金合欢素(6-C-rutiosylacacetin)的合成即是一例。

2) O-苷的合成。

在氢氧化钾-丙酮、银盐(Ag_2O 或 Ag_2CO_3)催化下，溴代糖乙酰化物与苷元或合成苷元片段经 Walden 翻转生成 O-苷键；若在汞盐[$Hg(CN)_2$ 和 $HgBr_2$]催化下，未经 Walden 翻转也能合成 O-苷键。这些反应同样也能合成双糖、三糖等寡糖，下面以枸桔苷(poncirin)的合成为例，阐明寡糖及 O-苷的一般合成方法。

α-溴代新橙皮糖乙酰化物的制备：1,3,4,6-四乙酰基-α-D-葡萄吡喃糖与 α-溴代鼠李糖乙酰化物在乙腈中以氰化汞和溴化汞催化，生成 α-新橙皮糖-七乙酸酯，然后在乙酸中以溴化氢处理，经 Walden 翻转生成 β-溴代新橙皮糖-六乙酸酯，再在乙酸中由乙酸汞处理转化成 β-新橙皮糖-七乙酸酯，后者再由溴化氢-乙酸处理经 Walden 翻转而得到 α-溴代新橙皮糖乙酰化物。



枸桔苷的合成：α-溴代新橙皮糖乙酰化物与 2,4-二羟基-6-苄氧基-苯乙酮在 10% KOH 丙酮液中经 Walden 翻转生成 2,6-二羟基-4-O-β-新橙皮吡喃糖基苯乙酮，后者与对甲氧基苯甲醛在强碱中缩合生成 2,6-二羟基-4-O-β-新橙皮吡喃糖基-4-甲氧基查尔酮，再由吡啶水溶液闭环而生成枸桔苷。

很多双氢黄酮，如江户樱花苷(prunin)、柚皮苷(naringin)和新橙皮苷等均采用类似路线合成。查尔酮-O-苷也可经二氧化硒转化成黄酮-O-苷，因此该法延伸也可合成黄酮-O-苷和异黄酮-O-苷等。

(6) 黄酮金属络合物的合成[44]

有研究报道，黄酮金属络合物表现出优于相应的黄酮化合物的活性，如蒋韵等报道黄芩苷锌对非特异性免疫系统和红细胞免疫系统具有明显的增强作用，且药效强于黄芩苷；曾成鸣等报道芦丁铜离子络合物的抗炎活性远远高于芦丁等。因此，合成黄酮金属络合物也是一项很有意义的研究工作。简单介绍如下：

由于黄酮类化合物的结构具有较高的超离域度、完整的大 π 键共轭体系及强配位氧原子与合适的空间构型，故可以作为金属离子良好的螯合配体，以金属离子作为 Lewis 酸，以黄酮核为 Lewis 碱进行酸碱加合

的螯合反应通常很容易完成。常用的合成方法为:将黄酮碱化成钠盐,后将该内络盐进行配体取代而获得黄酮的金属络合物。螯合配体黄酮多采用黄芩苷、桑色素、槲皮苷,其结构上均具有3,5位二羟基或4-羰基、5-羟基,其金属络合物可螯合成稳定的五元环或六元环;中心金属离子按周期表分类,非过渡金属以铝、镁使用频率最高,过渡金属以铜、铁、锌、锆使用频率最高,其结构上均具有d电子层或f电子层。

黄酮金属络合物的合成是植物化学、配位化学与生物无机化学的交叉应用,结合药理学、酶化学及光谱学等多学科协同攻关,有望开发出一些新型高效的黄酮金属络合物药物,为其他天然产物的药物研制开发提供借鉴。

(7) 黄酮类化合物的结构修饰

采用合成手段对黄酮类化合物进行结构修饰或改造,也是一个较大的研究方向。改变各环上的取代基或者对母核的骨架进行修饰等,可以得到各种各样的黄酮衍生物,其中的一些化合物有可能表现出更好的活性,在此就不详细讨论了。

第四节 黄酮类化合物的药理研究

黄酮类化合物分布广泛,具有多种生物活性,一直以来都得到国内外学者的重视,报道了很多有关黄酮类化合物的药理研究情况,下面对此做一概述。

一、心血管系统活性[7,45]

芦丁、橙皮苷、香叶木苷等具有维生素P样作用,能降低血管脆性及异常的通透性,可用作防治高血压及动脉硬化的辅助治疗剂。

不少治疗冠心病有效的中成药均含黄酮类化合物,研究发现芦丁、槲皮素(quercetin)、葛根素(puerarin)、人工合成的立可定(recordil)等均具有明显的扩冠作用,临床已用于治疗冠心病;槲皮素等黄酮类化合物可抑制由ADP、胶原或凝血酶引起的血小板聚集及血栓形成。

槲皮素、芦丁、金丝桃苷(hyperin)、葛根素、灯盏花素(breviscapine)、银葛根总黄酮、杏叶总黄酮对缺血性脑损伤有保护作用,其机制为抗自由基、抑制NO生成、阻断脑缺血后脑细胞Ca^{2+}内流、抑制缺血脑组织内中性粒细胞的黏附浸润等。

金丝桃苷、水飞蓟宾、木犀草素、沙棘总黄酮对心肌缺血损伤有保护作用,其机制为抗自由基、钙拮抗增加冠脉流量等。银杏叶总黄酮、葛根素、黄豆苷元等能显著降低心脑血管阻力和心肌耗氧量及乳酸的生成,对心肌缺氧损伤有明显保护作用。

其他还有沙棘总黄酮、葛根素、苦参总黄酮、甘草黄酮(主要为甘草素和异甘草素)具有抗心律失常作用;木犀草素具有镇咳、祛痰、降压作用;槲皮素能延长肾上腺素对气管的扩张作用,临床用于治疗支气管炎等。

二、抗菌及抗病毒活性[7, 45]

木犀草素、黄芩苷、黄芩素等均有一定程度的抗菌作用;槲皮素、双氢槲皮素、桑色素(morin)、山柰酚(kaempferol)等具有抗病毒作用。从菊花、獐牙菜中分离得到的黄酮单体化合物对HIV病毒有较大的抑制作用,大豆苷元、染料木素(genistein)、鸡豆黄素A对HIV病毒也有一定抑制作用。

三、抗肿瘤活性[45, 46]

Garlson等发现黄酮类化合物——flavopiridol可使人乳腺癌细胞停滞于G_1期,其机制为抑制周期依赖激酶(CDK_2和CDK_4)。谢冰芬等研究报道茶多酚可引起人鼻咽癌细胞株CNE_2细胞DNA损伤并诱导细胞凋亡。有研究报道槲皮素能通过抑制促进肿瘤细胞生长的蛋白质活性而抑制肿瘤的生长;槲皮素与高温联

合应用可显著抑制白细胞的生长，诱导肿瘤细胞的凋亡，其机制可能与影响蛋白激酶 C、cAMP 信息传递有关。黄芩苷元通过抑制 DNA 拓扑异构酶的活性而抑制肝癌细胞的增殖反应，诱导 KIM-1 细胞凋亡。金丝桃、黄菊葵、映山红中的金丝桃苷能抑制脑肿瘤细胞中葡萄糖的氧化利用，黄芩素可通过抑制脑肿瘤中的黄嘌呤氧化酶而抑制其生长。金雀异黄素可抑制动物肿瘤生长，对人体皮肤癌、乳腺癌的生长也有抑制，其机制可能与提高机体免疫力、抗氧化和抑制血管增生有关，美国已将金雀异黄素抗癌治疗药物列入临床研究发展计划。大豆异黄酮也有抗肿瘤作用方面的研究报道。

黄酮类化合物的抗肿瘤机制多种多样，如槲皮素的抗肿瘤活性与其抗氧化作用、抑制相关酶的活性、降低肿瘤细胞的耐药性、诱导肿瘤细胞凋亡及雌激素样作用等有关；水飞蓟宾的抗肿瘤活性与其抗氧化作用、抑制相关酶的活性、诱导细胞周期阻滞等有关。显然，黄酮类化合物有效多样的抗肿瘤活性预示其在肿瘤防治方面具有广阔的应用前景。

四、抗氧化自由基活性[45]

大多数黄酮类化合物均有较强的抗氧化自由基的作用。芦丁、槲皮素、异槲皮苷（isoquercetrin）200 μmol/L、250 μmol/L 清除超氧阴离子（O_2^-）和羟自由基（·OH）作用强于标准自由基清除剂维生素 E；金丝桃苷可抑制心脑缺血及红细胞自氧化过程中的 MDA 产生，显著提高大鼠血浆、脑组织中 SOD 和 GSH-Px 等抗氧化酶的活性，从而抑制脑缺血过程中氧自由基（OFR）的形成；汪德清等研究报道黄芪总黄酮（TFA）具有清除 O_2^- 和·OH、防止生物膜过氧化的作用，是黄芪抗氧化作用的主要成分；葛根素在 0.2 mg/L 时能清除多个体系产生的 O_2^-、·OH 和 H_2O_2；其他一些黄酮类化合物如甘草黄酮（licoflavone）、沙棘总黄酮等均有清除自由基或抗脂质过氧化的作用。黄酮类化合物的一些药理活性也往往同其抗氧化自由基相关。

五、抗炎、镇痛活性[7,45]

芦丁、羟乙基芦丁、双氢槲皮素等对角叉菜胶、5-HT 及 PGE 诱发的大鼠足爪水肿、甲醛引起的关节炎及棉球肉芽肿等均有明显抑制作用。金荞麦中的双聚原矢车菊苷元有抗炎、解热、祛痰等作用，临床用于肺脓肿及其他感染性疾病。金丝桃苷、芦丁及槲皮素等具有良好的镇痛作用，其机制与 Ca^{2+} 拮抗有关，尤其是金丝桃苷不仅在多种全身镇痛模型上有作用，而且在兔隐神经放电、兔耳 K^+ 皮下渗透等局部致痛模型上更有良好的局部镇痛作用，其作用机制与吗啡和阿司匹林均不同，为一新型镇痛药；银杏叶总黄酮（TFG）也有良好的镇痛作用，皮下注射 TFG 20.80 mg/kg 可显著减少小鼠扭体数和延长小鼠热板舔足潜伏期，侧脑室注射 TFG 也能延长小鼠舔足潜伏期，结果提示 TGF 有明显的镇痛作用，其作用机制可能与中枢有关。

六、保肝活性[7,45]

水飞蓟宾（silybin）的保肝作用已被药理实验证明，张俊平等研究报道其保肝作用与抑制肿瘤坏死因子（TNF）有关；有资料报道水飞蓟宾可显著抑制肝匀浆中 MDA 的产生，临床研究表明水飞蓟宾对中毒性肝损害、急慢性肝炎、肝硬化等有良好的治疗作用。淫羊藿黄酮、黄芪素、黄芪苷（astragaloside）能抑制肝组织脂质过氧化、提高小鼠肝脏 SOD 活性，减少肝组织脂褐素形成，提示对肝脏有保护作用。田基黄总黄酮有降酶、改善肝功能的作用；黄芩苷对阿霉素引起的肝脂质过氧化有保护作用；甘草黄酮可保护乙醇所致肝细胞超微结构的损伤等。

此外，大量研究表明黄酮类化合物还具有降压、降血脂、抗衰老、提高机体免疫力、泻下、解痉及抗变态等药理活性，说明黄酮类化合物的活性谱非常之广，而且该类化合物种类繁多，在植物中广泛分布，毒性又比较低，因此黄酮类化合物是新药开发研究中一个非常重要的资源，具有很广阔的开发应用前景。如韩冰等[47]报道淫羊藿（*Epimedium* L.）中的淫羊藿次苷（icariside）、淫羊藿总黄酮（TFE）及淫羊藿黄酮等黄酮化合物具有多种药理活性，主要集中在免疫系统、生殖系统、心脑血管系统及抗衰老、抗肿瘤等方面；毛峻琴等[48,49]报道大豆（*Glycine max* L. Merr.）中的异黄酮成分包括染料木素（金雀异黄素，genistein）、大豆黄素

(daidzein)和黄豆黄素(glycitein)及其糖苷类,具有防治癌症、降低血脂、抗动脉粥样硬化症、改善妇女更年期综合症、防止鼻出血综合症、提高机体免疫力等作用;葛根(*Pueraria lobata* Wild Ohwi)中的大豆苷元(大豆素、大豆黄素、黄豆苷元)、大豆苷、葛根素,葛根苷 A、B、C (双氢查尔酮的衍生物)等黄酮类成分具有心脑血管活性、抗肿瘤、抗氧自由基等作用[50]等。这些研究工作均展示了黄酮化合物广阔地开发应用前景。

第五节 黄酮类化合物的含量测定及其制剂

一、黄酮类化合物的含量测定

含量测定在中药材的品质鉴定、制剂工艺的评价及中药制剂的质控等方面有非常重要的意义。以下简要介绍一些黄酮类成分的含量测定方法。

1. 滴定法

常用的方法为溴库仑滴定法,此法是利用黄酮结构中的酚羟基可与溴发生取代反应的原理对黄酮化合物进行定量。徐礼燊等[51]曾系统地研究报道利用溴库仑法测定黄酮、异黄酮、黄酮醇及双氢黄酮的含量,此法具有微量、快速、简便、准确及不需标准品等优点。举 EGb 中总黄酮的含量测定为例[52]。以铂电极作指示电极,钨电极作参比电极,在含 KBr 的盐酸介质中,以 $KBrO_3$ 标准液为滴定剂,根据示波器荧光屏上荧光点的最大位移来指示滴定终点,由所消耗的 $KBrO_3$ 的量计算出 EGb 中总黄酮的含量(以芦丁计)。结果表明该法与紫外分光光度法比较结果无显著性差别(99%置信度)。

2. 紫外分光光度法(UV 法)

UV 法被一些药典所采用,但不专属,可大约估计总黄酮含量,不可能细致地定量测定单个黄酮类成分,但操作简单方便,仍是一种简易可行的测定方法,也可用于企业生产环节中初步的质量控制。举例如下:

1) 用双波长 UV 法测定银杏叶提取物及其制剂中总黄酮含量[52]。方法是取芦丁标准品,配制含芦丁的甲醇标准液,在 268 nm 和 285 nm 测定吸收度差 ρA ($\rho A = A_{268} - A_{285}$),绘制浓度 c 与 ρA 的关系曲线,用最小二乘法求回归方程,同时使芦丁标准液在一定范围内与 ρA 呈线性关系,经过方法学考察即可对试液进行测定。

2) 用 UV 法测定酸枣仁中总黄酮的含量[53]。方法是取 spinosin 为标准品(HPLC 检查纯度大于 99.0%),配制其甲醇标准液(0.1 mg/mL),精密吸取 0.5 mL、1.0 mL、1.5 mL、2.0 mL、2.5 mL 分别置于 10 mL 容量瓶中,加甲醇稀释至刻度、摇匀,以甲醇为空白对照,于 335 nm 处测定吸收度,用最小二乘法以浓度(mg/mL)(X)对吸收度(Y)进行线性回归得回归方程 $Y = 0.4046X + 0.0137$ ($r = 0.9997$),线性范围 0.005~0.025 mg/mL。经过精密度、稳定性、重复性、回收率等方法学考察后,即可对配制的供试液进行测定。

3) UV 法测定刺五加片中总黄酮含量[54]。方法是以芦丁为对照品,配制其甲醇标准液(0.10 mg/mL),以硝酸铝-亚硝酸钠为显色剂。精密吸取标准液 0.5 mL、1.0 mL、2.0 mL、3.0 mL、4.0 mL、5.0 mL、6.0 mL 分别置于 25 mL 容量瓶中,加水至 6 mL,加 5%亚硝酸钠溶液 1 mL,摇匀、放置 6 min 后加 10%硝酸铝溶液 1 mL,摇匀、放置 6 min,再加氢氧化钠试液 10 mL,加水至刻度,摇匀、放置 15 min 后,置 1 cm 比色皿中,于 500 nm 处测定其吸收度,根据数据回归得回归方程 $c = 0.086\ 46A + 0.000\ 539\ 5$ ($r = 0.9925$),线性范围 0.002~0.024 mg/mL。经过方法学考察后,可对同一厂家不同批号及不同厂家之间的刺五加片中的总黄酮含量进行测定,以控制刺五加片的质量。

4) 用 UV 法测定赤土茯苓中总黄酮的含量[55]。方法是以芦丁为对照品,三氯化铝乙酸钾为显色剂,波长为 420 nm,绘制标准曲线,得回归方程。以 8 倍量 60%乙醇对赤土茯苓回流提取 1h,共提取 4 次,测得总黄酮含量为 0.4%。该法简便、快速,可用于赤土茯苓生药及其制剂总黄酮含量测定及质量控制。

3. 薄层扫描法(TLC-Scan 法)

1) 荧光薄层扫描法测定葛根中的葛根素(puerarin)含量[56]。薄层扫描仪为岛津 CS-9000 型;以葛根素

为对照品，配制标准液（1.0 mg/mL）；市售葛根碾碎，过筛（0.42 mm），80℃干燥 1h 准确称取 1.000g，加 80 mL 70%乙醇于烧瓶中，水浴回流 3h，过滤至 100 mL 容量瓶中，定容得样品液。对照液分别配制成：0.05 mg/mL、0.1 mg/mL、0.2 mg/mL、0.4 mg/mL、0.6 mg/mL、0.8 mg/mL 点于同一硅胶 G 板上，薄层扫描后于 330 nm 处扫描色谱峰，以峰面积对浓度作图得工作曲线，即可对样品液进行测试。

2）双波长薄层扫描法测定淫羊藿苷（icariside）的含量[57]。回春衍生片由淫羊藿、枸杞子、五味子等中药组成，运用薄层扫描法对其中的淫羊藿苷进行定性定量分析，作为检测和控制质量的指标。取淫羊藿苷 2.0 mg，置 10 mL 容量瓶中，以 70%乙醇溶解并定容至刻度，得 0.2 mg/mL 的对照液；将 5 个批号的回春衍生片碾碎，各取 4.0g，置 100 mL 烧瓶中，加 50 mL 70%乙醇超声提取 30 min，过滤，用适量 70%乙醇洗涤，浓缩至 5 mL，得 5 批样品液；按处方称取除淫羊藿外的其他药材，按部颁标准工艺制备阴性样品，采用样品液的制备方法制得阴性对照液。仪器为岛津 CS-9000 型薄层扫描仪和紫外分光仪，薄层用硅胶 G 板，展开剂为氯仿-甲醇-丁酮（1∶2∶2），λ_S=275 nm，λ_R=360 nm，采用反射式锯齿扫描，线性化系数 SX=7。由对照液测试绘制标准曲线得回归方程，经过方法学考察即可对样品液进行测定。

3）薄层扫描法测定红曲及其制剂血脂康中大豆苷元的含量[58]。仪器为岛津 CS-9000 型薄层扫描仪和紫外分光仪，薄层用硅胶板 GF_{254}，展开剂为环已烷-乙酸乙酯-甲醇（5∶4∶0.7），λ_S=295 nm，λ_R=350 nm，采用反射式锯齿扫描，线性化系数 SX=7。由对照液测试绘制标准曲线得回归方程，经过方法学考察即可对样品液进行测定。

总的来讲，薄层扫描法是传统的含量测定方法，其简便易行，重现性好，但与 HPLC 相比，其操作还是比较繁琐，而且准确性也较差，目前以逐渐被 HPLC 所取代。

4．高效液相色谱法（HPLC 法）

20 世纪 70 年代后期，HPLC 法逐步广泛用于各类化学成分的含量测定。目前关于 HPLC 法测定黄酮类化合物含量的研究报道很多，HPLC 为药材的品质评定、药材的采收时间、提取工艺的筛选、有效成分的含量测定及制剂的质量控制等提供了简便、快速、高效的测试方法，举例如下：

1）HPLC 法测定不同产地葛根中葛根素（puerarin）的含量[59]。日本 Jasco 高效液相色谱仪，ANASTAR 色谱数据处理软件。色谱条件：色谱柱为 μ Bondapak C_{18}柱 10 μm（4.60 mm×250 mm）；流动相：甲醇-水（含 0.5%的乙酸）（27∶73）；流速：1 mL/min；检测波长：250 nm；理论塔板数按葛根素峰计算应不低于 2000。以葛根素为对照品，分别测定安徽、山东、山西、湖北野葛及广西粉葛中葛根素的含量，结果表明山东葛根中的葛根素含量最高，其品质最优。

2）采用 HPLC 法测定不同采收期黄芩中的黄芩苷含量[60]。高效液相色谱仪：Waters 501 泵，486 检测器，Waters U6K 进样阀，810 液相色谱工作站。色谱条件：色谱柱为 Sherisob C_{18}柱（5 μm，4.60 mm×150 mm）；流动相：甲醇-水-磷酸（60∶40∶0.2）；流速：1.0 mL/min；检测波长：280 nm；柱温：室温。以黄芩苷为对照品，分别测试一年中每个月的 15 日采收的黄芩（华南植物园）中的黄芩苷含量，结果表明春、秋二季采收的黄芩中黄芩苷的含量最高，与春、秋二季采挖的传统经验相一致，其中以秋季采挖最佳。

3）不同方法精制淫羊藿水提液中淫羊藿苷（icariside）的含量测定[61]。高效液相色谱仪：Waters 600 泵，486 紫外分光检测器，Millinenum 2010 色谱管理者软件。色谱条件：色谱柱为 Phenomenex maxsil 5μC_{18}柱（250 mm×4.60 mm）；流动相：甲醇-水-冰醋酸（50∶50∶1）；流速：1.0 mL/min；检测波长：270 nm；灵敏度：0.05AUFS。分别采用醇沉法、超滤法、大孔吸附树脂法和吸附澄清法对淫羊藿水提液进行精制，以淫羊藿苷（icariside）为对照品，测试四种精制方法所得浸膏中的淫羊藿苷（icariside）含量，结果表明醇沉法所得浸膏中淫羊藿苷（icariside）含量最高，其余方法均有所不及，故醇沉法仍是首选的精制工艺。

4）柴葛解肌颗粒剂中葛根素（puerarin）的含量测定[62]。日本岛津 LC-10A 高效液相色谱仪。色谱条件：YWG-C_{18}（150 mm×4.60 mm）色谱柱；流动相：甲醇-重蒸水（25∶75）；流速：1.0 mL/min；检测波长：250 nm；柱温：30℃。以葛根素为对照品，测定柴葛解肌颗粒剂中葛根素的含量为 0.39 mg/g 左右。该法能达到有效分离各组分的目的，且空白实验证明在葛根素色谱峰处其他成分无干扰，具有灵敏度高、操作简单、分离效果好等优点，可作为柴葛解肌颗粒剂的含量测定质量控制标准。

5）银杏制剂中三种黄酮苷元的含量测定[63]。高效液相色谱仪 600 泵，486 检测器，Waters 717 进样阀。

色谱条件：色谱柱为 Hypersil C_{18}柱(5 μm，4.60 mm×150 mm)；流动相：甲醇-0.5%磷酸溶液(48∶52)；流速：1.0 mL/min；检测波长：280 nm；在此条件下，槲皮素、山柰酚、异鼠李素的保留时间分别为 6.03 min、10.14 min、11.40 min。以槲皮素、山柰酚、异鼠李素为对照品，测试两种国内银杏片剂和一种进口银杏片剂中黄酮苷元的含量，结果表明国内产品中黄酮苷元的含量与进口产品相差无几。

综上所述，HPLC 法技术成熟，灵敏度高、重现性好，操作简单、快速高效，已逐渐成为含量测定的标准，为中药材及其制剂的质量控制等提供了很好的方法手段。

5. 毛细管电泳法

与 UV 法、TLC 法相比，毛细管电泳法具有分析周期短、消耗溶剂少、费用低、抗污染能力强等优点，适宜于一些黄酮类成分的快速定量分析。例如，采用高效毛细管电泳法测定葛根及其制剂正心泰胶囊中葛根素的含量。仪器和试剂：Beckman P/A system 5000 型毛细管电泳仪(美国 Beckman 公司)；融熔石英毛细管柱 75 μm×77 cm。硼砂为分析纯，甲醇为色谱纯。葛根素、双氯灭痛对照品由中国药品生物制品检定所提供。操作条件：运行缓冲液为 30 mmol/L 硼砂溶液；操作电压 30kV，极性由正到负；检测波长 254 nm，柱温 25℃；进样时间 5s。毛细管冲洗方法：开机后用 0.1mol/L 氢氧化钠溶液冲洗 2 min，运行缓冲液 2 min。每次测定之间运行缓冲液冲洗 1 min。以双氯灭痛为内标测定野葛、粉葛和正心泰胶囊中葛根素的含量，结果表明野葛中葛根素含量明显高于粉葛，而且野葛的质量相对稳定，粉葛的品质不一，葛根素含量变化很大；分析结果也证实正心泰胶囊中加的是野葛[64]。其他如采用胶束电动毛细管色谱法测定银杏黄酮[52]；采用毛细管区带电泳-电化学测定黄芩及其制剂中黄芩素和黄芩苷含量等[65]。

其他含量测定方法如气相色谱法、高速逆流色谱法、热喷雾 HPLC-MS 法、GC-MS、固相微萃取法及超临界萃取-色谱法等也有报道，但应用还不很普遍，有待于进一步研究探讨。

二、黄酮类化合物的制剂

鉴于黄酮类化合物多种多样的药理活性，将黄酮类成分制成合适的剂型以供药用也是黄酮类化合物的一个重要研究方向。制剂是药剂学的一部分内容，而药剂学是一门独立的专业学科，其理论内容及实践研究的范围很广，需要时可参考相关的参考书如《药剂学》(奚念朱主编，人民卫生出版社，1996 年)等。以下主要介绍已有的一些黄酮类成分制剂及一些新制剂技术的应用前景。

20 世纪 90 年代以来，随着制剂工艺的改进和生产技术的提高，银杏制剂已有浸膏剂、片剂、胶囊剂、软胶囊、颗粒剂、口服液、注射剂等多种剂型问世，广泛用于治疗心脑血管疾病，肝、肾、肺部疾患，精神病及糖尿病等，效果良好[66]。葛根黄豆苷元毒性很低，适合长期用药，可用于改善和消除高血压、冠心病患者的头晕等症状，有温和的降压作用，而且对突发性耳聋及骨质疏松症也有良好的疗效，很有开发价值；但葛根黄豆苷元属异黄酮结构，水溶性差，脂溶性也不理想，故生物利用度差；将葛根黄豆苷元与聚维酮以一定比例制成固体分散片，可以大大提高其体内生物利用度，疗效更佳[67]。淫羊藿苷(icariside)是中药淫羊藿中的主要有效成分，具有扩张冠脉和外周血管、改善机体各部血液循环等作用，将其与乳剂型软膏基质 HP-β-CD 制成皮肤外用软膏，释药速度最快，可以增强药物疗效，减少不良反应等[68]。壮骨肾宝胶囊有黄芪、箭叶淫羊藿、白术等中药组成，经水煎提取，喷雾干燥后加少量淀粉作赋形剂，填入胶囊而成，用于对类固醇性及长期应用羟基脲或肾上腺皮质激素乙酸泼尼松所致的骨质疏松症具有显著的防治作用[69]。

随着现代科学技术的发展，为中药制剂的发展提供了更好的条件，出现了更好的提取分离纯化工艺如絮凝沉淀法、超临界萃取技术、超声波提取、膜分离技术、超滤技术、微波萃取、半仿生提取法及酶化学技术等，客观上可以更好地除去杂质以提高制剂的质量，从而达到减少剂量、提高疗效的目的。新型辅料的研究发展，将中药制剂的发展推向更新的阶段，如聚维酮(PVP)及聚乙二醇(PEG)是西药固体分散剂良好的载体，在中药制剂中也发挥着同样的作用，促进了中药滴丸剂的发展。丙烯酸树脂Ⅱ号用于肝蒿素缓释颗粒的制备，具有较好的缓释效果，当速释部分释放量减少时，缓释部分的释放量逐渐增加，总体上保证了血药浓度的恒定；壳聚糖(chitosan)有类同于葡聚糖胺的结构特性，作为药物载体有很大的优越性，以壳聚糖为原料的药剂辅料有多种功能，如助悬剂、黏合剂、缓释剂、控释剂、微球载体和药用膜等功能；将其用于中药缓释微球揭

开了研制中药缓释制剂新的一页[70, 71]。其他如脂质体、毫微型胶囊、微球与磁性微球、微囊、固体分散体及饱和技术等应用于中药制剂也有很好的前景[72, 73]，将其用于黄酮类成分的制剂也有待于进一步地深入研究。

随着现代医疗保健的要求日益提高，药物制剂正向着“三效”（高效、长效、速效）和“三小”（剂量小、毒性小、副作用小）的方向发展，理想的中药制剂应具有稳定明确的成分指标及可重复的药理和临床效用数据，而当前的大多数的中药制剂离这个目标仍有一定的差距，黄酮类成分的制剂研究应该高屋建瓴，运用先进的制剂技术和材料，研制出符合现代医疗所需的中药制剂，以更好地促进黄酮类化合物的开发与应用。

第六节　现代生物技术在黄酮类化合物研究中的应用

现代生物技术最初用于天然产物的研究是利用植物细胞培养来生产天然有效成分，取得了良好的效果；继而有采用微生物的生物合成途径生产一些天然的化学成分；近年来基因工程技术的发展，带动了“中药基因组计划”的迅速展开，显示了诱人的广阔前景。以下主要讨论细胞培养技术在黄酮类化合物研究中的一些应用及“中药基因组计划”的简介，为黄酮类成分的深入研究提供一些参考。

一、植物细胞培养技术的应用

全世界75%的人口以植物作为治疗、预防疾病的药物来源。植物是一个巨大的天然药物宝库，其中的次生代谢产物不计其数且药理活性多种多样，从植物中筛选新药受到了世界各国相关部门的极大重视。如紫杉醇即是一个非常有价值的发现，在抗癌方面效果很好，但紫杉醇的植物资源严重匮乏而需求很大，即使对红豆杉进行掠夺性开发也不能满足市场的需要。美国国立癌症研究所（NCI）因此重新审视了其药物开发的原则，决定把药物的临床实验与资源开发及早地联系起来，以便使药物在经过临床验证后，能够很快满足市场的需求。现代生物技术的迅猛发展促进了植物细胞培养技术的日益成熟，开展药用植物的细胞培养研究，无疑是一个非常重要的思路[74]。

1. 利用植物细胞培养合成黄酮类化合物[74, 75]

黄酮类化合物是一种小分子酚类物质，广泛存在于植物界，是一种非营养成分，具有多种多样的生物功能，如调节植物生长、保护植物免受紫外线的损伤、作为植物的抗毒素（phytolexin）等。从植物中发现的黄酮类化合物已多达几千多种，黄酮类化合物生物合成的研究也比较透彻。

黄酮类化合物是多种中药材的主要活性成分，如野甘草（*Scoparia dulcis*）、猫眼草（*Chrysosplenium grayanum*）、紫玉盘（*Uvaria microcarpa*）、银杏（*Ginkgo biloba*）、黄芩（*Scutellaria baicalensis*）、葛根（*Pueraria* sp.）、雪莲（*Saussurea* sp.）、两面针（*Zanthoxylum nitidum*）等均以黄酮类化合物为主要活性成分，已有多种黄酮类化合物被证明有抗癌活性，最新研究表明柴胡等中药材对HIV有抗性，可抑制逆转录酶活性。植物组织培养生产黄酮类化合物的研究已开展很多，相继利用柴胡、淫羊藿、银杏、黄芩、钩藤等植物的细胞培养生产其中的黄酮类化合物。例如，刘佳佳等利用高产黄酮苷银杏悬浮细胞系生产银杏黄酮苷的研究，以槲皮素为对照品，测得黄酮苷含量为2.51%，有一定的产业化前景。

2. 植物细胞培养合成黄酮类化合物的影响因素[74]

植物细胞培养合成黄酮类化合物的影响因素有碳源、氮源、植物激素、剪切力、光照条件、两步培养法及高产细胞系的筛选等，实践中需经过各种因素的组合摸索，以确定最佳的培养生产方案。

总而言之，全面实现植物细胞培养的产业化仍有不少的困难，在植物细胞培养中要认真筛选目的产物和植物种类。首要筛选市场前景好的目的产物，而且该产物是植物细胞在非分化或低分化状态合成；还有就是要选择生长环境比较独特如：仅生长于一定海拔高度的植物种类来进行细胞培养。中草药是中华民族的宝贵财富，许多珍稀中草药均有难以替代的疗效，着眼于珍稀濒危中草药来开展其细胞培养研究工作，有着广阔的前景。

二、中药基因组计划

中药基因组计划(Traditional Chinese Medicine Genome Project, TCM-GP)是中药现代化的重要组成部分,其根本内容是从基因组学的高度,从分子水平上全面系统地发现、研究中药的基因以建立中药基因图谱,并从中寻找有效成分的功能基因,开展中药基因制药及转基因;发现、克隆、表达中药次生代谢产物的酶基因,利用代谢工程在实验室生产中药的有效成分,改良和培育新的品种及保存中药的种质资源和基因资源。从整个基因组的水平来阐明重要的、常用的或珍稀濒危品种的植物性中药基因在染色体的位置、结构、基因及其产物的功能、基因与基因之间的相互关系,搞清功能基因和次生代谢的酶基因,进而实现"工厂化生产"或"田间种植"。以下简要介绍"中药基因组计划"的主要内容[76]:

1) 染色体的分离与制备。搞清目的植物的核基因组有几条染色体及染色体的形状;植物中药种类多,有单倍体,还有多倍体,其染色体数目多少不一。

2) 核酸的分离提取。在显微镜下挑选分散好的染色体,用微细玻璃针在显微镜操作器下进行分离,将分离的单条染色体直接放入微量离心管中,用蛋白酶 K 法消化,提取出 DNA。另外,将植物细胞破碎,灭活 RNA 酶,采用分离总 RNA 的异硫氢酸胍法将 RNA 与 DNA 和多糖分开,从而提取出 RNA。

3) 核基因组作图。包括遗传作图(genetic mapping)、制作物理图谱(physical mapping)、测定序列图谱(sequence mapping)、建立转录图谱(transcription mapping)及基因的染色体定位(chromosome mapping)等。

4) 建立基因文库(gene library)。利用基因工程方法,把核基因组分割成同等大小片段,然后插入载体中,经转化后全部保存于宿主菌中即是基因文库。其主要包括基因组文库(genomic library)和 cDNA 文库。基因组文库是含有某种生物体全部基因的随机片段的重组 DNA 克隆群体。完整的基因组文库的构建使任何 DNA 片段的筛选和获得成为可能,是发现中药功能基因的工作基础。构建基因组文库时,先将植物中药染色体 DNA 提纯,通过机械剪切或酶切使之成为一定大小的片段,再将其与适当的载体连接、转化或转染细菌,即得到基因组文库。cDNA 是以 mRNA 为模板,在逆转录酶的作用下形成的互补 DNA 文库,也是指一群含重组 DNA 的细菌或噬菌体克隆。cDNA 便于克隆和大量扩增,不像基因组 DNA 含有内含子那样难以表达,可以从 cDNA 中筛选到所需的目的基因或功能基因,直接用于该基因的表达。

5) 基因序列测定。植物中药基因组基因序列的测定是"中药基因组计划"的核心与基石。随着计算机技术、仪器制造和分子生物学研究的迅速发展,DNA 自动测序技术取得了突破性进展,实现了基因测序简单、安全、精确、快速的完成。

6) 中药基因组生物信息学研究。即根据"中药基因组计划"得到的大量的基因组学和蛋白质组的生物学信息的数据,建立中药数据库,进行中药基因、蛋白质及多肽类等生物活性物质的信息化管理与分析等。

7) 功能基因和次生代谢酶基因的鉴定。这是中药基因组学研究的核心与精华所在。功能基因与次生代谢酶基因决定了中药有效成分的结构与功能,是中药现代化的关键环节,尽快找到功能基因或功能基因族及相关基因、次生代谢酶基因等,具有十分重要的意义。

8) 基因的克隆与表达。掌握了植物中药的基因,就可能在实验室研制和生产中药的基因药物,逐步实现工厂化生产。

9) 中药转基因。即将目的中药的有效成分的相关基因导入好种植、可食用的植物(如萝卜、甘蔗等)细胞中,经组织培养将细胞培养成植株,并且导入的基因在宿主体内能稳定的表达和遗传,实现田间种植,即可直接食用或从中提取大量高纯度的中药有效成分。

10) 利用代谢工程合成小分子有效成分。克隆表达中药次生代谢酶基因,按其次生代谢途径合成目的成分。

11) 生物芯片的应用。中药基因芯片包括分类、鉴定芯片和药物筛选芯片两种重要类型,前者可用于对中药材料及其制成品的定性、定量分析,在药物鉴定、质量保证方法具有非常重要的应用价值,还可用于寻找,发现中药新基因;后者用于中药的药效筛选及药理分析,还可用于证实、发现中药新品种。

"中药基因组计划"是将分子生物学、生物信息学等现代生物技术与其他现代科学技术相结合研究开发中药。美国相继提出的"人类基因组计划"(HGP)、"植物基因组计划"(PGP)、"微生物基因组计划"(MGP)

都取得了突破性进展。“中药基因组计划”(TCM-GP)是中药研究与应用的转折点，是落实我国中药现代化研究与开发政策的重大战略措施，是中药现代化的新的里程碑，加快 TCM-GP 的研究将对我国的中药产业产生巨大的影响。黄酮类化合物的研究应该高瞻远瞩，积极投入“中药基因组计划”的研究进程，为我国的中药研究做应有的工作。

第七节　因特网在黄酮类化合物研究中的应用

随着天然产物化学的学科发展，黄酮类化合物的研究硕果累累，积累了大量的知识和经验，合理的运用前人的积累，则研究工作往往能够触类旁通、事半功倍。但在众多的研究资料中想迅速获取目标信息、想动态掌握相关的最新学术情况等，无疑是比较困难的，而因特网的迅猛发展，为研究人员获取相关研究信息提供了很大的方便。本节将简要介绍张业旺等[77]收集整理的一些中药信息检索引擎，希望对天然产物研究人员及黄酮类化合物的研究等有所帮助。

一、文献查阅网站

1) MEDLINE(http://www.nlc.nlm.ncbi.gov)。它是美国国立医学图书馆创立的规模最大、权威性最高的文献数据库，收录从 1966 年至今 70 多个国家出版的刊物 4000 多种，内容涉及医学、动植物、微生物及食品等各个领域。进入检索主页，可用主题词或作者姓名进行检索，需要时可以进入高级检索模式，可以检索文献题目、出版日期、语言种类等。检索后返回文献摘要和题目、出版刊物，不提供原文。MEDLINE 是以医学为主的数据库，对中草药收录相对较少。

2) 美国化学会(http://www.cas.org)。收录近千种化学类刊物，其中包括一些中草药刊物，弥补了 MEDLINE 对中草药收录不足的缺点。进入该网站需进行注册(免费)，然后即可选择查阅的刊物，但免费用户的权限较有限，仅能查阅到文章的题目、刊物、作者和出版时间等很简略的信息。

3) 荷兰生物医学数据库(http://www.niwi.knaw.nl/cgi-bin/nph- biomed-search.pl)。它为荷兰皇家艺术和科学院主办，提供生物医药、历史、文学等领域信息。可用作者姓名、文章题目、机构、ISBN 号及出版时间、文献类型等关键词来检索，最多能进行 3 项联合检索。

4) WWW 图书馆(药学)(http://www.pharmacy.org)。WWW 图书馆是一个大型的虚拟图书馆，提供有大量的书籍、杂志和数据库，主要包括药学和生物科学两大类。可从该网站找到绝大多数药学和生物科学杂志的链接网址。

5) 万方数据公司(http://www.chinainfo.gov.cn 或 http://www. wanfangdata.com)。由中国科技信息研究所和万方数据集团公司主办。目前有 70 多个数据库供用户检索，部分是免费的，另外一部分是收费的。其数字化期刊包括化学、生物、医药卫生、农业及环保等共 10 大类，可检索自 1995 年以来近千种刊物的文章。在其医药卫生类里收录了国内大量的中医药期刊，可以查阅上网期刊的全文。

6) 中国期刊网(http://www.cnki.net)。它包括期刊专题数据库、期刊全文数据库、期刊题录数据库、期刊摘要数据库、中国专利数据库、全国技术创新数据库、重要报纸专题全文数据库、会议论文数据库及学位论文数据库等。在该网站可查阅从 1994 年至今国内数百种中医药期刊的题录。

7) 国家中医药管理局中国医药文献检索库(http://wall.cintcm.ac.cn/alldb/)。该系统由国家中医药管理局中医药文献检索中心研制。其内容包括中医药文献数据库、中医药报刊库、中成药商品库、中药企业库、国外传统医学机构库和中医药信息集成库。访问者可申请 DEMO 账号，获得有限度的免费服务。

二、中药数据库

1) 中医中药信息资源(http://159.226.2.20/chinese-drugs/chinesedrug2.html)。它包括①中药信息数据库(http://fruits.cnc.ac.cn:1542/medicine.html)：有药名、性味、功效和中药类别等信息，可查询有关中药材的详细资料，如鉴别(彩图)、来源、产地、植物特性、药物采收加工、药材形状、用量等。②中国中成药数据

库(http://159.226.2.20/lilyzcy/):可用剂型、药名、科别、主治等检索,结果返回规格、组成、功能、主治、生产厂家等信息。③中药有效成分数据库(http://159.226.2.20/cmp/):可由有效成分、用途分类及成分分类来检索,结果返回成分的化学式、结构式、分子式、相对分子质量、来源、物理特性、作用及参考文献等。

2) 中国中草药图谱(http://www.iinchina.net/yyws/zhongcao/ zhongcao.html)。它为医疗卫生网的中草药数据库,检索方式有中文名、英文名、药品功效、图片号码共4种,结果返回来源、产地、植物特性、性味功能、用量等。

3) 中国中草药大典(http://www.cnc.ynu.edu.cn/wlxx/yd/index.htm)。该数据库的结构是分层组织的目录索引,按形态分为根、花、木、皮等共11大类,按目录依次深入,可查询到相关中草药的信息,如植物形态、化学成分、功能主治等内容,并配有图片。

4) 中国生物医学文献数据库(http://www.imicams.ac.cn/cbmdisc/cbmdisc.html)。该系统收录自1981年至今近千种中国生物医学期刊及会议论文的文献题录,总计约140万篇,内容涉及药学、中医学、中药学、基础医学、临床医学等。

5) 中国医药数据库(http://www.imedicenter.com/database/default.htm)。它包括国家中药保护品种数据库,中国中医药科研获奖项目数据库,已批准生产的中药新药数据库,保健食品数据库以及海外中医药等数据库。

三、大学及科研院所网址

中国中医研究院网址:http://www.cintcm.ac.cn/catcm/yz/catcm.htm。
英国中医研究院网址:http://www.telinco.com/cma。
北京中医药大学网址:http://www.bjucmp.edu.cn。
广州中医药大学网址:http://www.gzutcm.edu.cn。
上海中医药大学网址:http://www.shutcm.edu.cn。
成都中医药大学网址:http://www.cdutcm.edu.cn。
南京中医药大学网址:http://www.njutcm.edu.cn。
黑龙江中医药大学网址:http://www.hljutcm.edu.cn。
中国台湾"国立"中国医药研究所网址:http://www.nricm.edu.tw。
中国台湾中国医药学院网址:http://www.lib.cmc.edu.tw。

四、组织机构网址

国家药品监督管理局信息中心网址:http://www.medicinechina.com.cn。
全国中药信息工作委员会网址:http://www.china-tcm.org.cn。
国家中药品种保护审评委员会网址:http://www.zybh.gov.cn。
国家中医药管理局网址:http://www.satcm.gov.cn。
中国台湾中医药委员会网址:http://www.ccmp.gov.tw。
美国食品药品署FDA网址:http://www.fda.gov。
世界卫生网网址:http://www.healthnet.org。
美国医学联合会网址:http://www.ama-assn.org。
美洲中华医学会网址:http://www.camsociety.org。
世界卫生组织网址:http://www.who.ch。
国际卫生与健康网络基金会网址:http://www.hon.ch。
中国药品生物制品检定所网址:http://www.sda.gov.cn/link/zsdw。

五、中药信息网

中国传统医药信息网网址：http://www.medicinechina.com。

中国中医药信息网网址：http://www.cintcm.com。

世纪药网网址：http://www.21ccp.com。

澳大利亚植物药网网址：http://www.kcweb.com/herb/herbmain.htm。

美国草药网网址：http://www.herbnet.com。

在线医药查询网网址：http://www.herbonline.com。

总的来说，因特网对中药研究工作具有很大的辅助作用，但因特网上的信息浩瀚如海，中药信息现代化的工作任重道远。

综上所述，黄酮类化合物分布广泛，种类繁多，药理活性多种多样，已有的产品也显示了黄酮类化合物的产业化前景。结合各种新的分离手段、制剂方法、分析技术以及现代生物技术、信息技术等，更深入地研究黄酮类化学成分，有望开发出抗肿瘤、抗衰老、治疗心血管疾病等具有广阔市场前景的新药，为人类防病治病做出应有贡献。

参考文献

[1] 中国科学院上海药物研究所植物化学研究室译. 黄酮体化合物鉴定手册. 北京：科学出版社，1981

[2] Mabry T J et al. The Systematic Identification of Flavonoids. New York: Heidelberg, Berlin: Springer, 1970

[3] Harborne J B et al. The Flavonoids. London: Chapman&Hall, 1975

[4] Harborne J B et al. The Flavonoids: Advances in Research. London, New York: Chapman&Hall. 1982

[5] Franks L et al. Flavonoids and Bioflavonoids. Studies in Organic Chemistry, 1981, 11

[6] Franks L et al. Flavonoids and Bioflavonoids. Studies in Organic Chemistry, 1985, 23

[7] 姚新生等. 天然药物化学. 北京：人民卫生出版社，1992，192

[8] 肖崇厚等. 中药化学. 上海：上海科学技术出版社，1994，265

[9] 巴根那等. 中成药，2000，22(4)：253

[10] 李苑等. 广东药学，1999，9(2)：4

[11] 郭孝武. 中草药，1993，24(10)：548

[12] 郭孝武等. 中国中药杂志，1994，19(6)：348

[13] 王昌利等. 中成药，1993，15(2)：7

[14] 王世苓. 中成药，1994，16(3)：2

[15] 马振山. 中成药，1997，19(12)：40

[16] 陈仲良等. 中草药，1998，29(增刊)：1

[17] 陆强等. 中成药，2000，22(9)：653

[18] 李伟等. 化工进展，1998，1：26

[19] Mishima K et al. 日本溶剂萃取论文报告会Ⅱ. 日本，富冈：1995

[20] 邓启焕等. 中草药，1999，30(6)：419

[21] 刘志敏等. 分析化学研究报告，1997，25(3)：272

[22] 杨庆隆等. 中成药，1995，17(6)：4

[23] 徐莲英等. 中成药，2000，22(1)：6

[24] 邢秀云等. 中草药，2001，32(1)：37

[25] 王慕邹. 中草药，1983，14(7)：43

[26] 王明龙等. 西北药学杂志，1993，8(3)：138

[27] 郑玉果等. 中草药，1994，25(10)：542

[28] 冯年平等. 中国中医药信息杂志，2000，7(10)：15

[29] 巢桂荣等. 中草药，2000，31(4)：310

[30] 熊远福等. 湖南农业大学学报，1996，22(1)：82

[31] 赵浩如等. 中成药，2000，22(11)：756

[32] 张尊听. 中草药，2000，31(3)：183

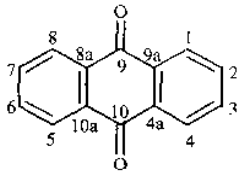
[33] 郭宝林等. 中国中药杂志，1996，21(5)：290

[34] 孙义基等.大然药物成分提取分离与制备.中国医药科技出版社,1994 189
[35] 黎万寿等.时珍国医国药,2000,11(11):971
[36] 陆蟾如等.中药化学.上海:学苑出版社,1995. 313
[37] 徐任生等.中草药有效成分提取和分离.上海:上海科技出版社,1983. 327
[38] 杨云等.中药化学成分提取分离手册.北京:中国中医药出版社,1998. 72
[39] 李玉琪等.解放军药学学报,2000,16(5):248
[40] 巴根那等.时珍国医国药,1999,10(4):252
[41] 巢杜荣等.中国中药杂志,1996,20(5):292
[42] 崔承彬等.沈阳药学院学报,1991,8(1):36
[43] Kitanaka S et al. Chem Pharm Bull,1992,40(1):249
[44] 张振学等.中草药,1996,27(3):179
[45] 黄河胜等.中国中药杂志,2000,25(10):589
[46] 施明.国外医学卫生学分册,2001,28(2):96
[47] 韩冰等.中草药,2000,31(11):873
[48] 毛峻琴等.中草药,2000,31(1):61
[49] 周琴等.时珍国医国药,2001,12(2):157
[50] 蒲白和等.西北药学杂志,2000,15(2):81
[51] 徐礼燊等.药学学报,1981,162:132
[52] 张鹤鸣等.广东药学院学报,2001,17(2):127
[53] 李会军等.中国药科大学学报,2001,32(1):73
[54] 张正康.时珍国医国药,2001,12(1):41
[55] 李玉琪等.解放军药学学报,2000,16(4):211
[56] 尚晓虹等.分析化学,2001,29(1):115
[57] 郁爱萍等.湖北中医杂志.2001,23(1):49
[58] 徐艳春等.中国中药杂志,2001,26(1):33
[59] 肖学凤等 中草药,2001,32(3):220
[60] 徐纪文等.广东药学院学报,2000,16(4):314
[61] 赵小妹等.中国实验方剂学杂志,2000,6(6):3
[62] 周燕波.中国现代应用药学杂志,2001,18(3):229
[63] 黎曙霞等.广东药学,2001,11(1):20
[64] 李红兵等.中国现代应用药学杂志,2001,18(3):213
[65] 陈刚等.分析测试学报,2001,20(1):27
[66] 郭海平等.天津药学,2001,13(3):62
[67] 黄绮红等.广东药学院学报,2001,17(2):87
[68] 楼志华等.中成药,2001,23(5):321
[69] 刘江琴等.中国现代应用药学杂志,2001,18(3):192
[70] 褚佩英等.中草药,2001,32(3):273
[71] 张志荣等.中草药,2000,31(增刊):1
[72] 王雪莉等.中草药,2001,32(2):176
[73] 张景勋等 中草药,2000,31(增刊):23
[74] 邢建民等.生物工程进展,2001,21(1):47
[75] 刘佳佳等.生物工程学报,2001,17(1):94
[76] 肖乐义等.中草药,2001,32(1):1
[77] 张业旺等.中草药,2001,32(3):271

(孔德云)

第十四章　蒽醌类化合物

蒽醌类化合物是蒽醌(anthraquinone)的各种衍生产物，是各种天然醌类化合物中数量最多的一类重要化合物。蒽醌(9,10-蒽二酮)的1,4,5,8位称 α 位，2,3,6,7位称 β 位，9,10位称 *meso* 位。



蒽醌

第一节　分　　布

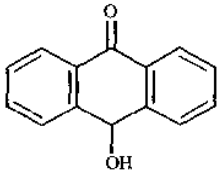
天然蒽醌类化合物多存在于高等植物、霉菌和地衣中，从动物中仅发现少量蒽醌类化合物。

高等植物中，茜草科植物中的蒽醌类化合物最多，芸香科、鼠李科、豆科[主要是山扁豆属(*Cassia*)]、蓼科[主要是大黄属(*Rheum*)和酸模属(*Rumex*)]、紫葳科、马鞭草科、玄参科[主要是毛地黄属(*Digitalis*)]及百合科植物中蒽醌类化合物也较多。霉菌中以曲霉属(*Aspergillus*)及青霉属(*Penicillium*)中蒽醌较多。

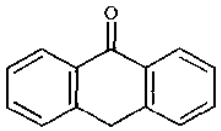
第二节　结 构 类 型

天然蒽醌类化合物多数是蒽醌的羟基、羟甲基、甲氧基和羧基衍生物。绝大多数的天然蒽醌含羟基。植物体内的蒽醌类化合物可呈游离形式或与糖结合成苷的形式存在。蒽醌苷中的糖多为葡萄糖。此外，还有鼠李糖、阿拉伯糖和木糖等。

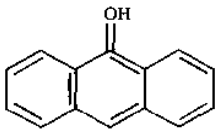
广义的蒽醌类化合物除了蒽醌衍生物外，还包括其不同还原程度的产物，如氧化蒽酚、蒽酚、蒽酮及蒽酮的二聚物。其结构式如下：



氧化蒽酚



蒽酮



蒽酚

蒽酚、蒽酮的羟基衍生物一般存在于新鲜植物中，该类成分可被逐步氧化。例如，蒽酚 *meso* 位上的羟基容易被氧化，但它与糖结合生成苷后就比较稳定。

一、蒽醌衍生物[1]

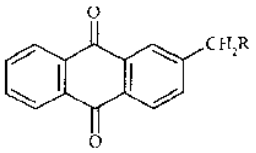
蒽醌衍生物是指蒽醌的 α，β 位连有不同取代基的衍生物。

1. 一取代蒽醌

一取代蒽醌的取代基多在 β 位，取代基可以是甲基、羟甲基、羧基、醛基等含碳侧链，也可以是羟基、甲氧基等取代基。少数一取代蒽醌的取代基在 α 位。

顶生醌(tectoquinone)来源于马鞭草科的柚木(*Tectona grandis* L. fil)，大戟科的 *Acatypha india*，茜草

科的羊角藤(*Morinda umbellata* L.)等植物。顶生醌是少数不具有羟基取代的蒽醌之一,顶生醌具有驱赶白蚁和其他昆虫的作用,柚木、榆木中由于存在顶生醌所以可以长期保存。其结构如下:

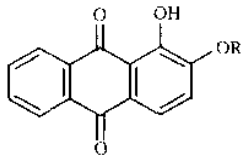


	R
顶生醌	H
2-羟甲基蒽醌	OH

2-羟甲基蒽醌存在于茜草科植物百眼藤(*Morinda parvifolia*)根中,体外实验有细胞毒作用,体内可抗白血病。

2. 二取代蒽醌

二取代蒽醌种类不多,取代基主要是羟基、甲基、醛基、甲氧基等。含碳取代基通常在 β 位。已发现的二取代蒽醌的两个取代基多数在同一个环上。二取代蒽醌的代表化合物是茜草素(alizarin)结构如下:



	R
茜草素	H
茜素-2-甲醚	CH_3

茜草素,熔点 290℃,是芸香科某些植物[如茜草(*Rubia cordifolia* L.)、西洋茜草(*Rubia tincotorum*)、羊角藤、海巴戟(*Morinda citrifolia*)等]的代表化合物,并以葡萄糖苷形式存在于 *Libertia coerulescens* 中。西洋茜草曾在西欧广泛种植,当时其根是茜草素的主要来源。

茜素-2-甲醚(alizarin-2-methyl ether)来源于茜草、西洋茜草、羊角藤等植物,也以植物毒素形式存在于金鸡纳树属(*Cinchona*)植物的组织培养物中。

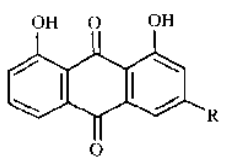
3. 三取代蒽醌

自然界存在较多的三取代蒽醌。根据羟基在蒽醌母核上的分布状况不同,可将羟基蒽醌衍生物分为大黄素型和茜草素型两类,这两类蒽醌衍生物主要为三取代蒽醌和四取代蒽醌。三取代蒽醌中大黄素型和茜草素型蒽醌衍生物比较重要。

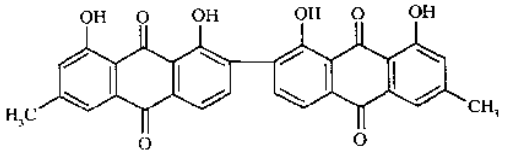
(1) 大黄素型蒽醌

大黄素型蒽醌衍生物羟基分布在两侧的环上,此类蒽醌多数呈黄色。中药大黄中的主要蒽醌衍生物[①]多属大黄素型。

大黄酚(chrysophanol; chrysophanic acid)相当广泛地存在于高等植物和低等植物中,甚至从土壤中也可以得到大黄酚的二聚体 chrysotalunin。掌叶大黄(*Rheum palmatum* L.)中,大黄酚以 1-*O*-β-D-葡萄糖苷即大黄酚苷(pulmatin)、8-*O*-β-D-葡萄糖苷(chrysophanein)和其双葡萄糖苷的形式存在。



	R
大黄酚	CH_3
芦荟大黄素	CH_2OH
大黄酸	COOH



chrysotalunin

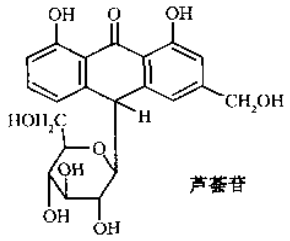
① 其主要理化性质、波谱数据及提取分离实例见本章第四节。

柯桠素(chrysarobin)又称去氧大黄酚，是大黄酚的还原产物，其互变异构体为9-蒽酮大黄酚(chrysophanic acid anthrone)，熔点200～207℃。前者是剧烈的泻药，有较强的杀霉菌作用，可用于治疗疥癣等症。两化合物均存在于豆科决明(*Cassia tora*)和铁刀木(*C. siamea*)种子，蓼科皱叶酸模(*Rumex crispus*)、鼠李科药鼠李(*Rhamnus purshiana*)等植物中。反应如下：



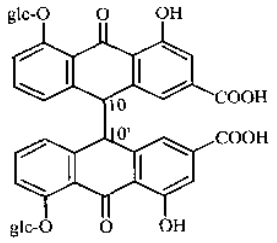
柯桠素　　9-蒽酮大黄酚

芦荟大黄素(aloe-emodin)存在于蓼科植物掌叶大黄根茎，药用大黄(*Rheum officinale*)根茎，巴天酸模(*Rumex patientia*)根，齿果酸模(*R. dentatus*)叶；豆科植物山扁豆(*Cassia mimosoides*)根，决明和望江南(*C. occidentalis*)种子，鼠李科鼠李(*Rhamnus davurica*)果实及芦荟属植物中。芦荟大黄素是大黄抗菌有效成分。芦荟大黄素-8-*O*-葡萄糖苷存在于掌叶大黄根茎中，是大黄泻下的主要成分之一。芦荟致泻的主要成分是芦荟大黄素的葡萄糖碳苷化合物芦荟苷(aloin)，熔点146～148℃。其结构如下：



芦荟苷

自然界中大黄酸(rhein)常以游离状态和成苷状态共存。大黄酸的二聚体番泻苷(sennoside)也可以从大黄及番泻叶(*Cassia angustifolia*)中分离得到。番泻苷具有两种异构体番泻苷A(sennoside A)和番泻苷B(sennoside B)。番泻苷A被酸水解后能生成两分子葡萄糖和一分子番泻苷元A(sennidin A)。番泻苷元A是两分子大黄酸蒽酮通过C_{10}—$C_{10'}$相互结合而成的二蒽酮类衍生物，其C_{10}—$C_{10'}$为反式排列。番泻苷元A具有光学活性，这主要由于10,10′之间的键限制其两端的蒽酮环自由旋转。番泻苷B水解后生成番泻苷元B(sennidin B)，其C_{10}—$C_{10'}$为顺式排列。番泻苷元B是非光学活性的*meso*型，番泻苷B的旋光性完全来自糖的部分。



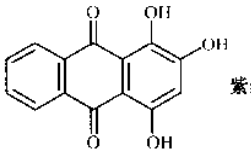
番泻苷A 熔点200~240℃ (dec.)，$[\alpha]_D$-147°
番泻苷B 熔点180~186℃ (dec.)，$[\alpha]_D$-100°

二蒽酮类衍生物的C_{10}—$C_{10'}$键与一般的C—C不同，易于断裂生成稳定的蒽酮类衍生物。大黄及番泻叶中的番泻苷A的致泻作用是因其在肠内变为大黄酸蒽酮所致。

(2) 茜草素型蒽醌

茜草素型蒽醌衍生物羟基分布在一侧环上，化合物多数为橙红色。中药茜草中的主要蒽醌衍生物多属此型。

紫红素(purpurin),熔点 263℃,是此类蒽醌的典型化合物。紫红素存在于茜草科西洋茜草、茜草,以及猪殃殃属(*Galium*)植物中。紫红素是茜草中所含的茜草素以外的另一种重要色素。幼植物中这种物质很少,成熟植物及其干燥根中紫红素可能是从以苷形式存在的伪紫红素(见四取代蒽醌)衍生而来。

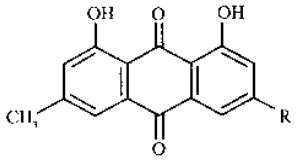


紫红素

紫红素-1-甲醚以植物抗毒素形式存在于茜草科金鸡纳树属植物的组织培养物中。

4. 四取代蒽醌

四取代蒽醌的代表化合物是大黄素,其苷是中药大黄中主要活性成分。

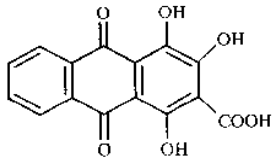


	R
大黄素	OH
大黄素甲醚	OCH_3

大黄素(emodin)是最广泛分布的一种天然蒽醌。在高等植物中它主要以糖苷形式存在,在真菌中发现它的二聚体。大黄素-8-*O*-葡萄糖苷存在于蓼科虎杖(*Polygonum cuspidatum*)树皮和 *Rheum moorcroftianum* 根茎,可抑制人类精子运动。

大黄素甲醚(physcion,rheochrysidin)通常与大黄素、大黄酚共存在植物中。大黄素甲醚同大黄素相比,后者的 β-羟基甲基化,由此导致它不溶于碳酸钠溶液。

伪紫红素(pseudopurpurin),熔点 222~224℃,以葡萄糖苷形式存在于某些茜草科植物根内,如燃料茜草(*Rubia tinctorum*)、猪殃殃属等植物中。伪紫红素属于茜草素型蒽醌。

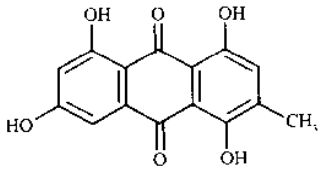


伪紫红素

5. 五取代蒽醌

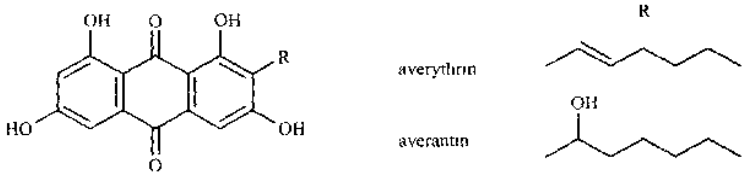
天然五取代蒽醌种类很多,其中许多从昆虫、软体动物、霉菌等中获得。

catenarin 存在于几种 *Helminthosporium* 霉菌中,从 *H. catenarium* 中可以获得超过菌丝体干重 15% 的 catenarin。



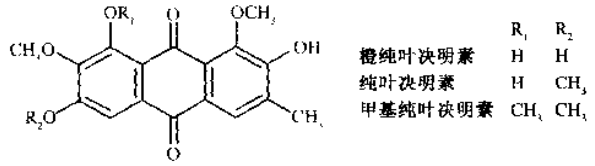
catenarin

霉菌 *Aspergillus versicolor*(Vuill)如同它的名字是具有多种颜色的有机体,从 *A. versicolor* 中分离出很多种有色化合物(包括 averythrin 和 averantin),其结构特征是 2 位含有一个 6 碳的侧链。



6．六取代蒽醌

天然六取代蒽醌不多。*Cassia obtusifolia* 种子中除了含有大黄酚等蒽醌外，还含有三个六取代的蒽醌：橙纯叶决明素(aurantio-obtusin)，熔点 265～266℃，纯叶决明素(obtusin)，熔点 242～243℃，和甲基纯叶决明素(chryso-obtusin)，如果分别全甲基化这三个蒽醌，产生相同的五甲氧基衍生物。

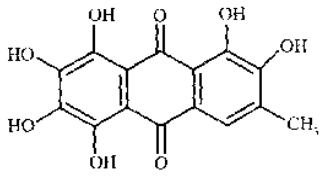


	R_1	R_2
橙纯叶决明素	H	H
纯叶决明素	H	CH_3
甲基纯叶决明素	CH_3	CH_3

甲基纯叶决明素的 β-葡萄糖苷称金决明苷(chryso-obtusin glucoside)存在于豆科决明和 *C. obtusifolia* 种子中，能强烈抑制大鼠血小板凝集。

7．七取代蒽醌

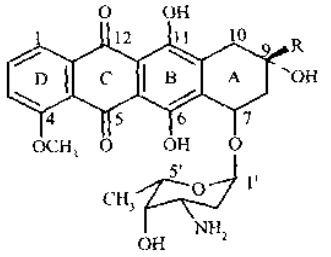
天然七取代蒽醌很少。2,5,7-三羟基大黄素可能是自然界含羟基最多的蒽醌，它存在于地衣 *Mycoblastus sanguinarius* 中，它的极性很强，需用热丙酮提取两周。



2,5,7-三羟基大黄素

二、蒽环酮类抗菌素

蒽环酮类抗菌素(anthracyclinone)可以看成是蒽醌的一个侧环上再拼合一个饱和或不饱和环的糖苷衍生物，这类化合物多来自链霉属。它们中很多具有抗肿瘤和抗菌等重要生理活性，属于抗肿瘤蒽醌类抗生素，其主要代表化合物是多柔比星(doxorubicin)又称阿霉素(adriamycin)和柔红霉素(daunorubicin)。多柔比星，熔点 229～231℃，盐酸盐熔点 204～205℃，$[\alpha]_D^{20}$248°(*c* 0.1，甲醇)和柔红霉素，熔点 208～209℃，盐酸盐熔点 188～190℃，$[\alpha]_D^{20}$248° ± 5°(*c* 0.05～0.1，甲醇)是广泛应用的重要抗肿瘤剂及抗菌素。



柔红霉素　R= $COCH_3$
多柔比星　R= $COCH_2OH$

多柔比星和柔红霉素的结构差异仅在 C-9 侧链上为氢原子和羟基。多柔比星是由 *Streptomyce speucetium* var. *caesius* 产生的蒽环酮类抗菌素，为橘红色针状结晶，易溶于水，临床上常用其盐酸盐。多柔比星具有脂溶性蒽环苷元和水溶性柔红糖胺，有酸性酚羟基和碱性氨基，易通过细胞膜进入肿瘤细胞，因此有很强的药理活性。

柔红霉素是由放线菌 *Streptomyce speucetins* 产生的抗生素，从我国河北省正定县土壤中也获得放线菌株，并得到同类物质，称为正定霉素。柔红霉素用于治疗急性白血病，多柔比星用于治疗各种实体瘤。这类化合物常具有很好的抗革兰氏阳性菌、支原体和某些酵母菌的活性，但对革兰氏阴性菌无效。由于毒性较大，它们在临床上不作为抗菌素使用。

第三节 理化性质

一、物理性质

蒽醌苷类易溶于热水和碱溶液，在甲醇、乙醇、冰醋酸及吡啶等溶剂中溶解度较大，在冷水中溶解度较小，难溶于乙醚、甲苯、氯仿等有机溶剂。

游离蒽醌类几乎不溶于冷水，微溶于冷乙醇，在热乙醇中溶解度较大，一般可溶于甲苯、氯仿、乙醚、吡啶、丙酮、冰醋酸及碱溶液。碱液中游离蒽醌产生樱红色反应，不能被有机溶剂提出；酸化后，能被有机溶剂提出。

蒽醌类或其苷类大多是黄色或橙红色的晶体，在不同 pH 下可能出现不同的荧光。有一些蒽醌化合物有升华性。苷类在酸性水溶液中加热可发生水解。

二、颜色反应

1. 碱显色

含有蒽醌的生药有颜色(如大黄的根茎呈黄色)，滴加氨水或碱液则显色加深。羟基蒽醌类化合物遇碱显红-紫色与酚羟基和羰基形成共轭体系有关。羟基蒽醌及具有游离酚羟基的蒽醌苷均可显色，而蒽酚、蒽酮、二蒽酮类化合物则需要经过氧化形成蒽醌后才能显色。

蒽醌及其苷的碱显色剂有：氨气；10%氢氧化钾甲醇溶液；3%氢氧化钠溶液或碳酸钠溶液；50%哌啶甲苯溶液；饱和碳酸锂溶液等。

2. 酸显色

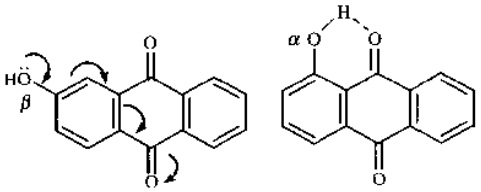
蒽醌类与浓硫酸反应呈红至红紫色。

3. 乙酸镁显色

蒽醌甲醇溶液中，加 0.25%～0.5%乙酸镁甲醇溶液即显色，此溶液也可作为层析的显色剂。产生颜色的必要条件是蒽醌分子中至少存在一个 α-羟基。产生的颜色随羟基的位置而改变，一般在 α-羟基的对位有羟基的蒽醌与乙酸镁反应显紫色，在 α-羟基的邻位有羟基的蒽醌与乙酸镁反应显蓝色，其他 α-羟基蒽醌与乙酸镁反应显橙至红色。

三、酸 性

蒽醌衍生物多具有一定酸性。其酸性强弱与分子中是否存在羧基以及酚羟基的数目和位置等有关。含有羧基的蒽醌衍生物(如大黄酸)的酸性较强，可溶于 $NaHCO_3$ 水溶液。β-羟基蒽醌中，受羰基吸电子作用的影响，β-羟基上氧原子的电子密度降低，质子解离度增高，故酸性较强，含 β-羟基的蒽醌衍生物一般可溶于 Na_2CO_3 水溶液。α-羟基与相邻羰基形成分子内氢键，降低了质子的解离度，故酸性较弱。



绝大多数的天然蒽醌都有羟基。羟基的位置不同，其所呈现的酸性也不同。只有 α-羟基的蒽醌仅溶于氢氧化钠(钾)溶液，而含 β-羟基的蒽醌能溶于碳酸钠(钾)溶液或碳酸氢钠(钾)溶液。某些游离蒽醌衍生物的酸性强度如下：含—COOH>含两个以上 β-羟基 > 含一个 β-羟基 > 两个 α-羟基 > 含一个 α-羟基。

第四节　提取和分离

一、提　　取

中草药中经常同时含有游离的和结合成苷的蒽醌类，提取时要确定将它们同时提出或分别提出。

1．乙醇提取法

取中草药粉末，用 90% 乙醇加热提取，提取液减压浓缩。需要时，可向浓缩液中加入乙酸铅溶液使蒽醌苷沉出。沉淀经过过滤，水洗，悬浮于水中，通硫化氢气去铅，过滤，含蒽醌苷的滤液调至中性，蒸干。这个方法提取的蒽醌苷可用硅胶等柱层析法或通过选择在适宜溶剂中重结晶，精制提纯。

2．稀碱性水溶液提取法

取中草药粉末用氨水或 0.1%～0.5% 氢氧化钠溶液室温提取。碱提取液先用乙醚等除去脂溶性杂质。然后将水液酸化，再用乙醚等将游离蒽醌类提出，回收溶剂。残渣用甲苯、甲醇、乙醇等重结晶精制。

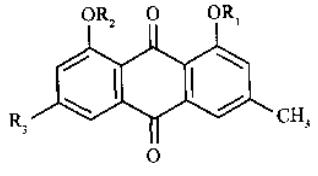
二、分　　离

中草药中的蒽醌类多以蒽醌苷状态存在，如果先水解，则全部蒽醌以游离形式得到。将生药用有机溶剂(如氯仿、甲苯)和 20% 硫酸回流，蒽醌全部转入有机溶剂层。然后以不同碱液(即碳酸氢钠、碳酸钠及氢氧化钠溶液)提取，分别酸化碱液，再用有机溶剂提取各类蒽醌。有机溶剂层水洗，干燥，蒸干得不同酸性的粗蒽醌，然后可通过重结晶精制。某些蒽醌类也可采用升华法进行精制。

上述利用不同蒽醌类酸性的差别，用碱性强弱不同的水溶液(如 5% 碳酸氢钠液、5% 碳酸钠液、1% 氢氧化钠液或 5% 氢氧化钠水溶液等)进行梯度萃取的方法简易、经济，但是在实验室分离一些性质类似的蒽醌常要用层析法。蒽醌及其苷类衍生物常用硅胶、聚酰胺、磷酸氢钙等层析法分离，一般不用氧化铝作吸附剂，因氧化铝对羟基蒽醌吸附能力太强，难以洗脱。不同 pH 的磷酸氢钙对不同的蒽醌类化合物吸附能力不同，预先用磷酸调节到所需的酸度，可改善分离效果。

液滴逆流色谱可用于蒽醌类化合物的分离。例如，非洲藤黄科药用植物 *Psorospermum febrifugum* 根皮的亲脂性提取物用硅胶色谱来分离其有效的蒽醌类成分会因不可逆吸附而导致样品的损失。然而，只用一步逆流色谱分离就能无损失地获得三个纯化合物，其中一个是蒽醌类化合物[2,3]。

配合使用液滴逆流色谱和循环高压液相色谱，从蓼科植物掌叶大黄(*R. palmatum*)的根部分离得到三个蒽醌类化合物，即大黄酚-1-*O*-葡萄糖苷、大黄酚-1-*O*-葡萄糖苷和大黄素甲醚-8-*O*-葡萄糖苷。



大黄酚 -1-*O*- 葡萄糖苷　R_1=Glc, R_2=R_3=H
大黄酚 -8-*O*- 葡萄糖苷　R_2=Glc, R_1=R_3=H
大黄素甲醚 -8-*O*- 葡萄糖苷　R_1=H, R_2=Glc, R_3=OCH_3

取掌叶大黄根的薄片 50g，用苯－20%硫酸(5:1)回流 4h，放冷，倾出上清液，药渣用苯冲洗 2 次，液体合并，置分液漏斗中分出酸水层，苯层用水洗 3 次，再用 5%碳酸氢钠提取 3 次，合并碱提取液，用盐酸调至酸性，即有黄色沉淀生成，用升华法精制，得黄色针晶大黄酸。苯层再用 5%碳酸钠提取 3 次，合并碱液，用盐酸调至酸性，有黄色沉淀生成，沉淀在 1.6kPa 下减压升华，得橙色针状结晶大黄素。苯层再用 5%氢氧化钾液提取 3 次，碱液合并，用盐酸调至酸性，得橙色沉淀，用氯仿洗涤多次，为芦荟大黄素粗品，氯仿溶液用 0.5%氢氧化钾液提取 2 次，碱液合并，盐酸调至酸性，得红色沉淀，为芦荟大黄素粗品，粗品用甲苯重结晶，得橙色针状结晶。氯仿层用 5%氢氧化钾提取至水层近无色，合并碱液，用盐酸调至酸性，得浅黄色沉淀，此沉淀经纤维素粉柱层析法分离，用水饱和的石油醚洗脱，分段收集，合并相同组分，浓缩后用醋酸乙酯重结晶，得大黄酚和大黄素甲醚[4]。

1) 大黄酸。黄色针状结晶(升华法)，熔点 321～322℃，几不溶于水，溶于碱和吡啶，略溶于乙醇、苯、氯仿、乙醚和石油醚。UV $\lambda_{max}^{CH_3OH}(\varepsilon)$nm:229(36 800)，258(20 100)，435(11 100)。IR $\nu^{KBr}(cm^{-1})$:1710(羧基)，1637(螯合 C═O)。分子式:$C_{15}H_8O_6$，相对分子质量:284.21。

2) 大黄素。橙色针状结晶(乙醇)，熔点 256～257 ℃，几不溶于水，溶于乙醇及碱溶液。^{13}C-NMR (DMSO-d_6)123.88(C-7)，164.32(C-1)，107.71(C-2)，165.40(C-3)，108.88(C-4)，120.22(C-5)，148.04(C-6)，161.19(C-8)，189.44(C-9)，180.92(C-10)，132.51(C-10a)，112.99(C-8a)，108.68(C-9a)，134.77(C4a)，21.44(CH_3)。分子式:$C_{15}H_{10}O_5$，相对分子质量:270.23。

3) 芦荟大黄素。橙色针状结晶(甲苯)，熔点 223～224 ℃。易溶于热乙醇。在乙醇及苯中呈黄色，氨水及硫酸中呈绯红色。分子式:$C_{15}H_{10}O_5$，相对分子质量:270.23。

4) 大黄酚。六方形或单斜结晶(乙醇或苯)，熔点 196 ℃，升华。几不溶于水，略溶于冷乙醇，易溶于沸乙醇，溶于苯、氯仿、乙醚、冰醋酸及丙酮等，极微溶于石油醚。IR $\nu^{KBr}(cm^{-1})$:1680，1630，1607。UV $\lambda_{max}^{CH_3OH}(\varepsilon)$nm:224(4.73)，257(4.48)，277(4.18)，287(4.18)，429(4.14)。MS m/z(%):254(100)。分子式:$C_{15}H_{10}O_5$，相对分子质量:254.23。

5) 大黄素甲醚。砖红色单斜针状结晶，熔点 203～207℃。溶于苯、氯仿、吡啶及甲苯，微溶于乙酸和乙酸乙酯，不溶于甲醇、乙醇、乙醚和丙酮。UV $\lambda_{max}^{CH_3OH}(\varepsilon)$nm:266(4.45)，255(4.22)，267(4.25)，288(4.22)，440(4.02)。IR $\nu^{KBr}(cm^{-1})$:1625(螯合 C═O)，1668(游离 C═O)，1570(C═C)，3400(OH)。分子式:$C_{16}H_{12}O_5$，相对分子质量:284.26。

第五节 波谱分析

一、紫外和可见吸收光谱

蒽醌类化合物高度不饱和的母核使其在紫外和可见光区具有多个吸收带，这些紫外和可见吸收峰的位置和吸收强度与蒽醌类化合物的取代有一定的关系。通过分析蒽醌类化合物的紫外-可见光谱，可以获得一定的结构信息，这对于推测其取代类型有参考价值。

羟基蒽醌类化合物的紫外-可见光谱有多个吸收带，它们的具体峰位和吸收强度与蒽醌母核上的取代基的性质、数量及排列方式有关。230 nm 附近的峰与酚羟基数目有关。蒽醌母核上带有一个酚羟基时，λ_{max} 为 225 nm；当蒽醌母核上酚羟基数目增加，该吸收峰则随羟基数目的增加，向长波方向位移。蒽醌母核上有 β-酚羟基存在时，260～295 nm 范围内的吸收峰 lgε 值大于 4.1，否则提示无 β-酚羟基存在。当蒽醌母核 α-位上有—CH_3，—OH，—OCH_3 时，430～450 nm 谱带处的峰位红移，但强度降低；当上述取代基处于 β 位时，则该峰吸收强度增高。α-羟基的数目对可见光区的吸收峰影响较大。例如，蒽醌类化合物含一个 α-羟基，400～420 nm处出现吸收峰；含两个或两个以上 α-羟基，则将在 430 nm 以上出现吸收峰，且吸收峰的数目随 α-羟基数目的增加而增多。

蒽醌类化合物的紫外-可见光谱提供的信息对其结构推测有一定的用途，但由于例外较多，所以其紫外-可见光谱数据通常仅作为结构分析的旁证证据。

二、红外光谱

羟基蒽醌红外光谱特征是1670 cm $^{-1}$附近有羰基的伸缩振动吸收，3600～3150 cm^{-1}区间有羟基的伸缩振动吸收，1600～1480 cm^{-1}区间有苯环的骨架振动吸收。

蒽醌的羰基吸收峰对结构分析有参考价值。未取代蒽醌两个羰基的化学环境相同，故红外光谱中仅有一个C═O吸收峰，其频率为1675 cm $^{-1}$。不含α-OH蒽醌化合物的$\nu_{C=O}$一般在1679～1653 cm^{-1}之间。该吸收峰受吸电子基的影响将向高频率方向位移，受给电子基的影响将向低频率方向位移。含一个α-羟基的蒽醌衍生物，因一个C═O可与α-羟基生成氢键，两个C═O的化学环境有明显的差别，它的IR谱上出现两个C═O峰，分别在1660 cm^{-1}和1630 cm^{-1}附近，两峰的频率差约30 cm^{-1}。1,8-二羟基蒽醌类衍生物，有两个$\nu_{C=O}$峰：一个未缔合的$\nu_{C=O}$峰出现在1678～1661 cm^{-1}；另一个缔合的C═O吸收峰向低波数移动，出现在1626～1616 cm^{-1}，两峰的频率差为40～57 cm $^{-1}$。1,4-或1,5-二羟基蒽醌类化合物，两个羰基都已缔合，故其红外光谱中在1645～1608 cm^{-1}只出现一个缔合$\nu_{C=O}$峰。含三个或四个α-羟基的蒽醌化合物通常只能观察到一个低频率的缔合C═O峰，该峰有时与C═C骨架振动频率相重叠。

含α-羟基的蒽醌化合物中的α-羟基因与羰基缔合，其吸收频率移至3150 cm $^{-1}$，多与不饱和C—H伸缩振动频率重叠。

三、质　　谱

蒽醌类化合物的质谱中，分子离子峰总是强峰。蒽醌的分子离子峰为基峰。蒽醌的质谱特征是相继失去两分子一氧化碳，形成 m/z 180(M-CO)及152(M-2CO)的强峰。一羟基蒽醌和二羟基蒽醌除了有(M-OH)离子以外，还分别有(M-3CO)和(M-4CO)等强峰。α-甲氧基蒽醌的质谱中会出现(M-CHO)强峰。蒽醌苷用常规电子轰击质谱得不到分子离子峰，其基峰一般为苷元离子。

四、核磁共振谱

蒽醌母核芳氢的核磁共振信号可分为两类：α-芳氢处于C═O的负屏蔽区，受C═O的影响较大，共振发生在较低磁场区，峰中心在δ 8.07左右；β-芳氢受C═O的影响稍小，共振发生在较高磁场处，峰中心在δ 6.67附近。

取代蒽醌NMR谱中，芳香环上孤立氢表现为单峰。相邻两个氢，应出现相互邻偶的两重峰($J_{邻}$ = 6.0～9.4 Hz)，间位芳氢(两个芳氢中间碳上的取代基为—OR、—OH或—COOH等)应有两个二重峰($J_{间}$ = 0.8～3.1Hz)。蒽醌衍生物中取代基的性质、数目和位置对芳氢的化学位移、峰形均产生影响；反之，蒽醌母核也影响取代基上质子的化学位移和峰形。蒽醌衍生物中，芳香甲基作为给电子基可使相邻芳氢的δ值减小约0.15，使间位芳氢的δ值减小约0.10。—CH_3可与相邻芳氢发生丙烯偶合(J = 0.6～0.9 Hz)，当核磁共振分辨率较低时，甲基峰与芳氢峰的宽度加大。芳香羟基和甲氧基为给电子基，它们可使其邻位及对位芳氢向高磁场位移约0.45；与芳环相连的羟甲基中的亚甲基质子的δ值约4.6，呈单峰，有时呈双峰；—COOH则使邻位芳氢向低磁场位移约0.8。

蒽醌中的α-羟基与羰基形成氢键，其信号出现在^{1}H-NMR的低场。当分子中只有一个α-羟基时，其化学位移值大于12.25。当两个羟基位于同一羰基的α-位时，分子内氢键减弱，其信号在δ 11.6～12.1。邻位无取代的α-羟基质子出现在11.1～11.4；否则其化学位移值小于10.9。

^{13}C-NMR在蒽醌类化合物的鉴定中有重要地位。蒽醌母核的碳原子可分为四类。无取代蒽醌中这些碳的化学位移值如下：α-碳126.6；β-碳134.3；羰基碳182.5；季碳132.9。

蒽醌母核仅一个环上有取代基，而另一个环无取代基时，无取代基环上各个碳原子的δ值变化很小，即取代基的跨环影响不大，在预测蒽醌结构类型时，可不考虑另一环上取代基对所研究环的影响[5]。

蒽醌母核上取代基的性质、数目和位置不同，对被取代碳的δ值产生不同的影响。α-甲基、β-甲基、α-乙

酰氧基及 β-乙酰氧基取代对蒽醌^{13}C-NMR取代基的位移值见表 14-1。

表 14-1 蒽醌^{13}C-NMR 的取代基位移值($\Delta\delta$)

C	C_1—OH	C_2—OH	C_1—OCH_3	C_2—OCH_3	C_1—CH_3	C_2—CH_3	C_1—OAc	C_2—OAc
C-1	34.7	−14.4	33.2	−17.1	14	−0.1	23.6	−6.5
C-2	−10.6	28.8	−16.1	30.3	4.1	10.1	−4.8	20.6
C-3	2.5	−12.8	0.8	−12.9	−1.0	−1.5	0.3	−6.9
C-4	−7.8	3.2	−7.4	2.5	−0.6	−0.1	−1.1	1.8
C-5	0	−0.1	−0.7	−0.1	0.5	−0.3	0.3	0.5
C-6	0.5	0.0	−0.9	−0.6	−0.3	−1.2	0.7	−0.3
C-7	−0.1	−0.5	0.1	−0.1	0.2	−0.3	−0.3	−0.5
C-8	−0.3	−0.1	0	−0.1	0	−0.1	0.4	0.6
C-9	5.4	0	−0.7	0	2.0	−0.7	0.9	−0.8
C-10	−1.0	−1.5	0.3	−1.3	0	−0.3	−0.4	−1.1
C-10a	0	0	−1.1	0.3	0	−0.1	−0.3	−0.3
C-8a	1.0	0.2	2.2	0.2	0	−0.1	2.0	0.5
C-9a	−17.1	2.2	−12.0	2.1	2.0	−0.2	−7.9	5.4
C-4a	−0.3	−7.8	1.4	−6.2	−2.0	−2.3	1.6	−1.6

按表 14-1 所归纳的取代基位移值进行推算，蒽醌母核上每个环上仅有一个取代基时，实验值与推算值误差一般在 0.5 以内。当两个取代基在不同环时，则会产生较大的偏差，需对表 14-1 中数据做修改。如取代基为—OH 或—OCH_3 时，1,3-二取代蒽醌，C-2，−3；C-4，+4；1,4-二取代蒽醌，C-1、C-3，+3；C-2，+2；C-4，+2.5；C-13、C-14，−1.6。

^{13}C-NMR 的取代基位移规律可用于解析多种取代蒽醌的结构[6]。但对某些蒽醌应用该方法误差较大，所推定的结构可信度较低。此时，运用^{1}H-^{13}C远程相关谱可有效地解析其结构。

例如，1,3,6-三羟基-2-甲基蒽醌和 1,3,7-三羟基-2-甲基蒽醌的 UV，IR，^{1}H-NMR等波谱几乎完全相同。吴立军等利用^{1}H-^{13}C相关谱解析前者的结构[7]。^{1}H-NMR中信号 δ 7.12(1H, s)归属为 H-4；为了确定 7.14 (1H, d, J=2.5Hz)，7.37(1H, d, J=2.5Hz)，7.95(1H, d, J=8.5Hz)的 ABX 系统的归属，即确定 6 位还是 7 位连有羟基，进行^{1}H-^{13}C远程偶合谱的研究。根据与碳基形成氢键缔合的碳基在较低场这一常识可将 δ 185.6 归属为 C-9(与 OH-1 形成氢键缔合的羰基)，δ 182.0 归属为 C-10，从^{1}H-^{13}C远程相关谱中可观测到 δ 7.37 的质子与 δ 182.0 的 C-10 相关，δ 7.95 的质子与 δ 185.6(与 HO-1 形成氢键缔合的)C-9 相关，据此可将 δ 7.37 归属为 H-5，δ 7.95 归属为 H-8，结合^{1}H-NMR谱的偶合常数可将该化合物上述 ABX 系统的 3 个信号归属为 8,7,5 位的质子，即羟基取代在 6 位而不是 7 位。

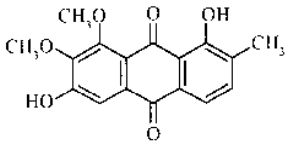
第六节 研究实例

一、毛线柱苣苔中的蒽醌[8~10]

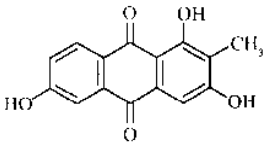
毛线柱苣苔(*Rhynchotechum vestitum* Hook. f. et. Thoms.)为苦苣苔科(Gesnericeae)线柱苣苔属的多年生半灌木植物，主要分布在中国云南南部，当地民间用该植物的根茎治疗甲型肝炎和乙型肝炎。

毛线柱苣苔粗粉，用 95% 乙醇渗漉，减压浓缩，浸膏在水和氯仿两相间分配。氯仿液用 5% 碳酸钠溶液萃取，从萃取后的氯仿液中分离得到 β-谷甾醇(β-sitosterol)和羽扇豆醇(lupeol)；自碳酸钠溶液部位分得三个蒽醌化合物：茜根定(rubiadin)、茜根定-1-甲醚(rubiadin-1-methylether)和新化合物毛线柱苣苔蒽醌(rhynchotechol)。浸膏萃取后的水相用大孔树脂处理，水-乙醇梯度洗脱。30% 乙醇洗脱部位经硅胶柱层析，氯仿:甲醇(4:1)洗脱，得游离蒽醌门衣司亭-1-甲醚(munjistin-1-methyl ether)及 5 个蒽醌苷，即茜根定-3-*O*-β-葡萄糖苷(rubiadin-3-*O*-β-glucoside)、光泽汀-3-*O*-β-葡萄糖苷(lucidin-3-*O*-β-glucoside)、光泽汀-1-甲醚-11-*O*-β-葡萄糖苷(lucidin-1-methyl ether-11-*O*-β-glucoside)、光泽汀-3-O-β-樱草糖苷(lucidin-3-*O*-β-primeveroside)

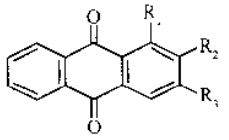
和茜根定-1-甲醚-3-*O*-*β*-樱草糖苷(rubiadin-1-methyl ether-3-*O*-*β*-primeveroside)，上述大孔树脂50%乙醇洗脱部位经进一步硅胶柱层析，分离得到茜根定3-*O*-*β*-樱草糖苷(rubiadin-3-*O*-*β*-primeveroside)。另取乙醇浸膏分别用石油醚、二氯甲烷、乙酸乙酯、正丁醇提取，浸膏萃取后的水相用大孔树脂处理，水-乙醇梯度洗脱，自洗脱液中分得6-羟基茜根定(6-OH-rubiadin)。乙酸乙酯部位经硅胶柱层析，氯仿-甲醇梯度洗脱分离得到1,3-二羟基-2-乙氧羰基-9,10-蒽醌(1,3-dihydroxy-2-carboethoxy-9,10-anthraquinone)。上述化合物中门衣司亭-1-甲醚和光泽汀-1-甲醚-11-*O*-*β*-葡萄糖苷是新化合物。



毛线柱苣苔蒽醌



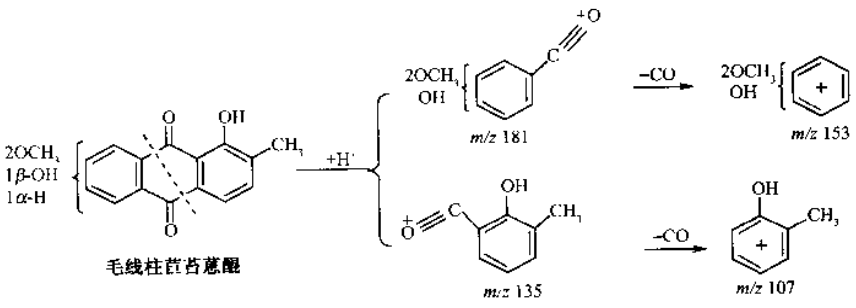
6-羟基茜根定



名　称	R_1	R_2	R_3
茜根定	OH	CH_3	OH
茜根定-1-甲醚	OCH_3	CH_3	OH
门衣司亭-1-甲醚	OCH_3	COOH	OH
1,3-二羟基-2-乙氧羰基-9,10-蒽醌	OH	COOEt	OH
茜根定-3-*O*-*β*-葡萄糖苷	OH	CH_3	O-*β*-glc
光泽汀-3-*O*-*β*-葡萄糖苷	OH	CH_2OH	O-*β*-glc
光泽汀-1-甲醚-11-*O*-*β*-葡萄糖苷	OCH_3	CH_2O-*β*-glc	OH
茜根定-1-甲醚-3-*O*-*β*-樱草糖苷	OCH_3	H	O-*β*-prim
光泽汀-3-*O*-*β*-樱草糖苷	OH	OH	O-*β*-prim
茜根定-3-*O*-*β*-樱草糖苷	OH	H	O-*β*-prim

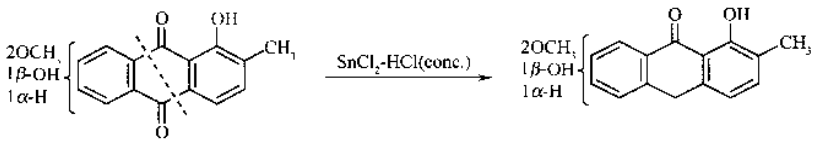
注：prim = 6-*O*-*β*-D-xylopyranosyl(木糖)-D-glucopyranosyl(葡萄糖)；glc = D-glucopyranosyl(葡萄糖)。

毛线柱苣苔蒽醌，橙色结晶，熔点236.5～238℃(乙醇)，由高分辨质谱得分子式：$C_{17}H_{14}O_6$；UV在222 nm、281 nm、413 nm有吸收，提示其为羟基蒽醌；IR显示存在游离羟基(3353 cm^{-1})以及非缔合(1656 cm^{-1})和缔合(1630 cm^{-1})两个羰基。^{1}H-NMR提示分子中含有五个取代基：*α*-OH(*δ* 13.37)，*β*-OH(*δ* 6.45，加重水后消失)，*β*-CH_3[*δ* 2.25(3H, s)，一般*α*-CH_3在*δ* 2.8附近；*β*-CH_3在*δ* 2.4附近]，以及两个—OCH_3[*δ* 4.1(3H, s)，4.0(3H, s)]。^{1}H-NMR还显示分子中含有一个*α*-H*δ* 7.68(s)及两个相互偶合的邻位芳氢*δ* 7.68和7.45(d, *J* = 8Hz)，其中*δ* 7.45的信号与*δ* 2.35的*β*-CH_3具有相同的$W_{1/2}$，提示两者存在丙烯型偶合。毛线柱苣苔蒽醌的MS中有*m/z* 181，135，153，107等裂解碎片峰，根据羟基蒽醌的质谱裂解规律，该化合物中五个取代基的取代位置如下：



毛线柱苣苔蒽醌

为了确定左侧芳香环上三个取代基的位置，还原毛线柱苣苔蒽醌：



毛线柱苣苔蒽醌

比较两者的^{1}H-NMR发现4-H、5-H分别向高场位移了约1 ppm，表明原蒽醌非缔合羰基两侧均无取代基，即孤立的α-H应处于C-5位。余下两个—OCH_3和一个β-OH的位置是通过NOE技术（照射β-OH，观察5-H的增益），推定毛线柱苣苔蒽醌的结构为1,6-二羟基-2-甲基-7,8-二甲氧基-9,10-蒽醌。最后通过HMQC和HMBC确定了其结构，并对各碳信号进行了归属。

门衣司亭-1-甲醚，黄色结晶，熔点270℃（分解），分子式$C_{16}H_{10}O_6$，对$FeCl_3$和KOH的显色反应及其UV在243 nm和283 nm的吸收峰，提示其为羟基蒽醌；EI-MS出现m/z 281$[M-OH]^+$和$[M-CO_2]^+$碎片峰表明存在—OH和—COOH取代；而280$[M-H_2O]^+$的碎片峰提示羟基可能在羧基的邻位，因这种取代模式有利于两个取代基通过6元环的过渡态脱去一分子H_2O。^{1}H-NMR中δ 3.80（3H，s）表明第三个取代基为—OCH_3；δ 7.16（1H，s）和7.79～7.87，8.07～8.13（4H，m，对称的AA′BB′芳香质子）表明该蒽醌母核上一个芳香环未取代，而另一个芳香环取代了—OH、—COOH、—OCH_3。该蒽醌IR中的1675.9 cm^{-1}和1654.7 cm^{-1}吸收峰以及碳谱中两个羰基碳的吸收峰（179.0 ppm和183.2 ppm）表明两个蒽醌羰基均未缔合，羟基应取代在β位。孤立的芳氢（δ 7.16）应为α-H（H-4），它比典型的α-H（δ 8.07）向高场位移了约0.9 ppm，这主要是由于其邻对位（C-3、C-1）上—OH和—OCH_3的给电子效应的影响。由于—OCH_3和H-4间没有观察到NOE效应，所以其结构推定为2-羧基-3-羟基-1-甲氧基-9,10-蒽醌（门衣司亭-1-甲醚），此结构最后进一步通过HMBC证实。

光泽汀-1-甲醚-11-*O*-β-葡萄糖苷，淡黄色结晶，熔点218～220℃（甲醇），分子式为：$C_{22}H_{22}O_{10}$，UV中241 nm、275 nm和335 nm的吸收峰以及IR在3591 cm^{-1}、1670 cm^{-1}和1583 cm^{-1}处的吸收峰提示该化合物为羟基蒽醌的糖苷；^{1}H-NMR信号中δ 3.877（3H，s）、4.599和4.892（AB系统，各1H，d，J=10.1Hz）及^{13}C-NMR信号中δ 162.0和162.5（含氧取代的芳香碳），59.2（含氧取代的脂肪仲碳）表明其蒽醌母核具有3个取代基（—OCH_3、—OH和—CH_2OH）。4个芳香质子（AA′BB′类型）和一个孤立的α-芳香质子表明该化合物蒽醌母核上的取代基分布在1,2,3位。鉴于该植物中分得的蒽醌类化合物如取代基集中分布在一个环上，则含碳取代基总β位，从生源上考虑，羟甲基暂定在C-2位。由于—OCH_3和H-4之间没有NOE效应，所以推测—OCH_3和—OH分别连在1位和3位。通过与已知蒽醌化合物（光泽汀-1-甲醚-3-*O*-β-樱草糖苷）比较碳谱，发现该蒽醌化合物苷元的碳谱与已知物相比有如下明显的差别：C-11的信号明显向低场位移（−7.2 ppm）；C-3和C-9a的信号明显向高场位移；糖的异头碳信号向低场位移2 ppm；该化合物的异头氢信号向高场位移了约0.8 ppm。以上证据强烈提示糖连在醇羟基（OH-11）上而不是酚羟基（OH-3）上。根据异头氢H-1′的J值（7.8Hz），参考糖部分的^{13}C-NMR数据，确定所连糖为葡萄糖，其糖苷键为β-构型。该化合物的结构定为光泽汀-1-甲醚-11-*O*-β-葡萄糖苷。最后通过HMQC和HMBC归属了所有碳氢信号，进一步证实了所推定的上述结构。

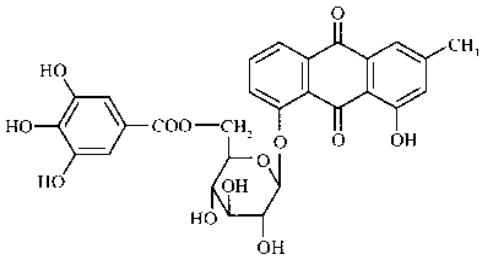
二、河套大黄中的蒽醌[11]

河套大黄系蓼科大黄属波叶组（*Rheum hotaoense* C.Y. Cheng et C. T. Kao）的干燥根与根茎，味苦，性寒。河套大黄无明显的致泻作用，具有类似于大黄的止血、抗菌、消炎等作用。本品已用于从中获取大黄苷作为降血脂的原料。

从河套大黄的甲醇提取物中，经硅胶和聚酰胺柱层析得到10个蒽醌类成分，经化学和波谱方法分别鉴别为大黄酚、大黄素甲醚、大黄素、芦荟大黄素、大黄酸、大黄酚-1-*O*-β-D-吡喃葡萄糖苷、大黄酚-8-*O*-β-D-吡喃葡萄糖苷、大黄素甲醚-8-*O*-β-D-吡喃葡萄糖苷、芦荟大黄素-8-*O*-β-D-吡喃葡萄糖苷、大黄酚-8-*O*-β-D-(6′-

O-没食子酰)-吡喃葡萄糖苷。

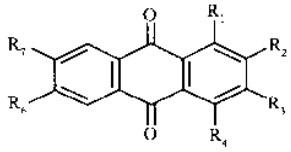
大黄酚-8-*O*-β-D-(6′-*O*-没食子酰)-吡喃葡萄糖苷为一橘黄色针状结晶(丙酮),熔点 213～216 ℃。硅胶薄层板上氨熏呈现淡红色,示为蒽醌类。质谱特征峰提示分子中含酰式结构。^{13}C-NMR给出蒽醌母核、六碳糖、没食子酰基信号。薄层酸水解检出大黄酚、葡萄糖和没食子酸。UV、IR 数据提示分子中有一个游离 α-OH。大黄酚相比,^{1}H-NMR谱中 H-7 较 H-4 处于低场;^{13}C-NMR谱中 C-8 较 C-1 位于高场,示 8 位成苷。由^{1}H-NMR δ 5.23(1H, d, *J* = 7.7Hz)和^{13}C-NMR δ 100.2,76.2,74.0,73.1,69.9,63.4 确定糖为 β-D-葡萄糖;糖的 C-6 及 H-6 均低场位移,提示没食子酰基接在葡萄糖的 6 位上。故推断其结构为大黄酚-8-*O*-β-D-(6′-*O*-没食子酰)-吡喃葡萄糖苷,为一新化合物。其结构如下:



三、*Isoplexis isabelliana* 细胞培养液中的蒽醌[12]

Isoplexis isabelliana Masfi 细胞培养物的冰冻干燥物用 70% 乙醇提取可获得总蒽醌。总蒽醌经 CPC(离心分配层析)得 66 个组分,根据 TLC 的结果,适当合并上述组分,进一步经 HPLC 分离纯化得 9 个化合物,它们的结构通过 TLC、UV-VIS、^{1}H-NMR、LC/ESI-MS/MS 等方法鉴定。9 个化合物的名称及结构如表14-2所示。

表 14-2

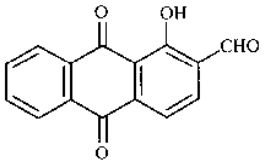


名　称	R_1	R_2	R_3	R_4	R_6	R_7
6(或 7)-hydroxydigitolutein	H	CH_3	OH	OCH_3	OH 或 H	H 或 OH
digitolutein	H	CH_3	OH	OCH_3	H	H
1-hydroxydigitolutein	OH	CH_3	OH	OCH_3	H	H
phomarin	H	CH_3	H	OH	H	OH
digiferruginol	OH	CH_2OH	H	H	H	H
β-hydroxypachybasin	H	CH_2OH	H	OH	H	H
digiferrol	OH	CH_2OH	H	OH	H	H
madeirin	OH	CH_3	H	OCH_3	H	H
3-methoxy-2-methylanthraquinone	H	CH_3	OCH_3	H	H	H

四、*Morinda elliptica* 中的蒽醌[13]

Ismail 等从芸香科植物 *Morinda elliptica* L. 中分离得到 2-醛基-1-羟基蒽醌和其他 10 种已知的蒽醌。2-醛基-1-羟基蒽醌,橙色结晶,熔点 183～185℃ ($CHCl_3$),分子式为 $C_{15}H_8O_4$,其 UV 中 407 nm 处的吸收峰遇碱位移至 531 nm,其 IR 谱中存在 1638 cm^{-1}(缔合羰基)和 1676 cm^{-1}(非缔合羰基)吸收峰,提示化合物

中存在 α-OH。从^{1}H-NMR谱中可观察到一个醛基质子 δ 10.63(1H, s),6 个芳香质子和 1 个缔合羟基的 OH 信号 δ 13.26(1H, s)。^{1}H-NMR谱中芳香质子的信号提示该化合物的羟基和醛基均取代在一个环上而另一个环是未取代的。δ 8.35(1H, m)和8.32(1H, m)的信号归属于 H-8 和 H-5;δ 7.88(2H, m)的信号归属于 H-6 和 H-7。另一个环上的 2 个芳香质子 δ 8.23(1H, d, J = 8.0Hz),7.89(1H, d, J = 8.0Hz)提示两者互为邻位。由于 OH 位于 1 位,醛基应位于 2 位,通过 HMQC 和 HMBC 证实了所推定的上述结构。其结构及^{13}C-NMR信号归属如图 14-1 所示。



C-1	164.5
C-2	128.4
C-3	135.4
C-4	118.7
C-4a	137.2
C-5	127.7
C-6	134.7
C-7	135.3
C-8	127.1
C-8a	134.8
C-9	188.9
C-9a	117.4
C-10	181.8
C-10a	133.3
C-11	188.0

图 14-1

第七节 生物活性

一、泻下作用

许多中草药泻药如西宁掌叶大黄及各种鼠李属植物的皮中主要致泻成分是蒽醌类衍生物。大然的蒽醌类化合物多具有致泻作用,其作用强度与结构有下述关系:①蒽醌苷的致泻作用强于苷元,苷元蒽酚的作用强于相应的蒽醌类。如果蒽醌类的酚羟基被酯化,则泻下作用消失;②分子中含羧基的蒽苷,其致泻作用强于相应的不含羧基的蒽苷。含羧基的蒽苷中,二蒽酮苷(如番泻苷)的活性强于蒽醌苷。

当内服此类泻药时,蒽醌类化合物必须到达大肠才能显效。游离的蒽醌衍生物在到达大肠前,绝大多数已被吸收或破坏,所以起到的致泻作用很弱。蒽醌苷由于糖核的保护作用,多可达到大肠发挥致泻疗效。

二、抗菌、抗炎作用

某些蒽醌类化合物(如大黄酸、大黄素、芦荟大黄素等)还有抑菌作用,苷元的作用强于苷类。某些蒽酚类成分(如柯桠素等)具有较强的抗霉菌作用。

中药大黄对多种动物实验性炎症有明显抑制作用,且受炮制方法不同的影响。研究表明中药大黄中大黄素能显著抑制角叉菜胶引起的足趾肿胀及乙酸引起的腹腔毛细血管通透性增高,并且对角叉菜胶引起的急性胸膜炎具有显著的抑制作用,具有抗炎作用。实验结果表明大黄素在体内易吸收,起效快,对炎症早期的渗出、毛细血管通透性增高、白细胞游走等有较好的对抗作用,对急性炎症有明显对抗作用[14]。

在机体对组织损伤和感染的炎症反应中,巨噬细胞分泌的细胞因子介导的反应是创伤、感染反应的基本部分,但在炎症免疫反应过程中过量释放,却导致多脏器功能障碍及衰竭。这些细胞因子的过量存在,进一步激活多形核白细胞和内皮细胞等效应细胞,并释放自由基、蛋白酶等,加速花生四烯酸代谢,释放血栓素,前列腺素、白三烯和一氧化氮等炎性介质,形成瀑布效应,导致过度炎症反应。研究证实,大黄素对此有明显的抑制作用,可使上述细胞因子的分泌达到或接近正常水平。另外,大黄素对机体的正常免疫防御功能又有

促进作用，发挥双向调节作用[15,16]。

三、抗氧化作用

某些蒽醌类化合物（如大黄素、芦荟大黄素等）具有明显的抗氧化能力，这种能力是通过清除羟基自由基实现的。蒽醌类化合物的抗氧化能力与羟基在蒽醌上的取代位置有关[17]。用化学发光体系检测大黄消除多种活性氧的作用为手段，以抑制各体系光强度50%的大黄浓度作为指标，结果显示，大黄能清除O_2、H_2O_2和其他活性氧，抑制脂质过氧化，是一种有效的抗氧剂[18]。

四、抗肿瘤作用

蒽环酮类抗生素是20世纪70年代发展起来的抗肿瘤抗生素。此类抗生素主要通过作用于DNA，而达到抗肿瘤目的。这类蒽醌嵌合到DNA中，每6个碱基对嵌入2个醌环。醌环的长轴与碱基对的氢键呈垂直取向，氨基糖位于DNA的小沟处，D环插到大沟部位。这种嵌入作用使碱基对之间的距离由增大，而引起DNA的裂解。蒽环酮类抗生素的构效关系表明：A环的几何结构和取代基对保持其活性至关重要，C-9的羟基及其侧链的羰基与DNA双螺旋的碱基对产生氢键作用。C-9和C-7位的手性不能改变；否则将失去活性，若9,10引入双键，则使A环结构改变而活性丧失。若将C-9位由羟基换成甲基，则蒽醌与DNA亲和力下降，而活性丧失。

柔红霉素的作用与多柔比星相同，临床上主要用治疗急性粒细胞白血病及急性淋巴细胞白血病。柔红霉素和多柔比星的主要毒副作用为骨髓抑制和心脏毒性，其产生原因可能是醌环被还原成半醌自由基，诱发了脂质过氧化反应，引起心肌损伤。多柔比星是广谱抗肿瘤药物，临床上主要用于治疗乳腺癌、甲状腺癌。肺癌、卵巢癌、肉瘤等实体瘤。

动物试验证实虎杖中大黄素具有抑制1-硝基芘（1-NP）致突变作用和对抗1-NP的基因毒性作用。其水提物和大黄素能显著降低1-NP的致突变作用，且有量效依赖关系，^{32}P标记沙门菌TA98实验证实大黄素还能明显抑制1-NP的DNA加合物形成，说明它们直接阻滞或抑制1-NP的致突变作用。

五、酪氨酸蛋白激酶抑制作用[19]

酪氨酸蛋白激酶（PTKs）能催化ATP磷酸基转移到许多重要蛋白质的酪氨酸残基上，使酚羟基磷酸化。受体酪氨酸激酶-Ras-MAPK是将外界刺激信号传递到细胞核内的重要途径。PTKs不但参与激素和生长因子等胞外信息的传递，还和细胞的恶变和增殖有关。PTKs在细胞增殖中的作用提示，其特异性抑制剂对肿瘤会有预防及治疗价值。从蓼科植物虎杖根中分离出对PTKs具有强抑制活性的大黄素，而同时分离得到的大黄素甲醚和大黄素-8-*O*-葡萄糖几无活性，结果表明C_6-和C_8-位羟基对抑制PTKs活性起重要作用。PTKs抑制活性的动力学分析表明，对于ATP来说，大黄素是一种竞争性抑制剂，对于含酪氨酸的肽底物来说，大黄素是一种非竞争性抑制剂，这一结果指出大黄素通过阻止ATP结合而发挥抑制$p56^{lck}$的活性。大黄素对致癌基因src-Her-2/neu和ras-oncogenes显示出高度选择性抑制作用。细胞活性测试表明大黄素对各种肿瘤细胞抑制作用与直接细胞毒性无关，因此大黄素是一个很好的肿瘤细胞生长抑制剂。

刘彦珠等[20]用四氮唑（MTT）法及流式细胞技术测定大黄素、大黄酸对平滑肌细胞的增殖抑制作用。发现大黄素抑制平滑肌细胞增殖的有效剂量范围为其血药浓度的25～125倍；大黄酸的有效剂量范围为其血药浓度的12.5～75倍。

参考文献

[1] Thomson R H. Anthraquinones in: Naturally occurring quinones. 2nd Ed. New York: Academic Press Inc, 1971

[2] Marston A et al. J Chromatogr, 1988, 450(1): 3450

[3] Marston A et al. Planta Med, 1986, (3): 207

[4] 阚毓铭.中药化学实验操作技术.北京:中国医药科技出版社,1988,149
[5] 刘光明等 国外医药——植物药分册,1989,4(3):98
[6] Itokawa H et al. Chem Pharm Bull,1983,31:2353
[7] 吴立军等. 沈阳药学院学报.1994,11(2):138
[8] 刘光明,陈泽乃,姚天荣,丁维功. 药学学报,1990,25(9):699
[9] Lu Y et al. Phytochemistry,1998,47(2):315
[10] Lu Y et al. Phytochemistry,1998,49(4): 1135
[11] 李军林等. 中草药,2000,31(5):321
[12] Arrebola M L et al. Phytochemistry,1999,52:1283
[13] Ismail N H et al. Phytochemistry,1997,45:1723
[14] 祁红. 中草药.1999,30(7):522
[15] 张俊等. 中草药,2001,32(8):718
[16] 蔡胜秀. 中国中医药信息杂志,1997,4(3):23
[17] Yeng C et al. Food Chemistry.2000,70:437
[18] 陈李武等. 中国药学杂志,1996,31(8):461
[19] 尚明英等. 中草药,1997,28(7):433
[20] 刘彦珠等. 清华大学学报(自然科学版),1998,38(12):32

(陆 阳)

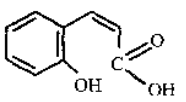
第十五章　香豆素类化合物

第一节　概　　述

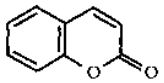
香豆素类(coumarin)是一类具有芳甜香气的天然产物，是药用植物的主要活性成分之一。

香豆素类的母核是由顺式邻羟基桂皮酸所形成的内酯，称 α-苯并吡喃酮(benzo-α-pyrone)或 1,2-苯并吡喃酮(benzo-1,2-pyrone)，系由苯丙素类(phenyl propanoid)在生物体内衍生而成。

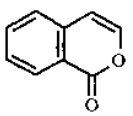
香豆素类在结构上应与异香豆素类(isocoumarin)相区分，异香豆素分子中虽也有苯并吡喃酮结构，但它可看做是邻羧基苯乙烯醇所成的酯。



顺式邻羟基桂皮酸



香豆素



异香豆素

香豆素类可以游离态或成苷形式存在于植物界，据早年统计，曾分布于 30 以上的科，约 150 种植物，其中以双子叶植物中的伞形科(Umbelliferae)、芸香科(Rutaceae)和桑科(Moraceae)含量最多，其他在豆科(Leguminosae)、木犀科(Oleaceae)、茄科(Solanaceae)、菊科(Compositae)和兰科(Orchidaceae)中也较多。

香豆素类在自然界的特点是数量和类型较多。R. D. H Murray 和 A. Estévez-Braun 等对 1812 年首次发现香豆素至 1996 年期间的天然香豆素进行了系统整理(表 15-1)，出版了专著，又连续进行了综述报道。

表 15-1　天然香豆素类有关文献资料统计

作者	起讫年份	化合物数	文献数	参考资料
R. D. H. Murray 等	1812～1980	786	3383	[1]
R. D. H. Murray	1980～1988	500	426	[2]
R. D. H. Murray	1988～1994(CA. Vols 108～121)	504[1)]	320	[3]
A. Estévez-Braun	1995～1996(CA. Vols 122～125)	145[1)]	121	[4]

1)系按文内化合物编号统计，其中少量与以前有重复。

按以上统计，自 1812～1996 年，已有文献报道 4250 篇之多，涉及结构数达 1900 个以上(包括部分重复)。

近年来，随着现代色谱和波谱技术的应用和发展，发现了不少新的结构类型，如色原酮香豆素(chromonocoumarin)、倍半萜类香豆素(sesquiterpenyl coumarin)，以及 prenyl-furocoumarin 型倍半萜衍生物等。此外，也发现某些罕见的结构，如香豆素的硫酸酯、无含氧取代如 3,4,7-三甲基香豆素和四氧取代的香豆素。在香豆素的多聚体上，尚发现混合型二聚体，如由香豆素与吖啶酮、喹诺酮或萘醌等组成的二聚体。

在分离和鉴定手段上，不少新方法、新技术近年也被应用。例如，超临界流体被用于提取；多种制备型加压(低、中、高)和减压色谱被应用于分离；毛细管电泳应用于分析；在结构鉴定上，2D-NMR 被普遍采用及负离子质谱的使用等。

在合成上，近年也报道了不少更简便，得率更高的方法，包括某些一步合成法。

在生物活性上，近年也取得了不少进展，如分离得到一系列能抑制 HIV-1 逆转录酶的胡桐内酯类(calanolide)，能显著扩张血管的凯林内酯(khellactone)类化合物，最近又发现某些香豆素能抑制 NO 合成和具有植物雌激素活性等。不少香豆素类的构效关系也被进一步研究。

第二节 结构类型

香豆素最早由 Vogel 于 1820 年报道从圭亚那的零陵香豆(tonka bean),即黄香草木犀(*Melilotus officinalis*)中获得,香豆素名称就起源于零陵香豆的加勒比词"coumarou"。

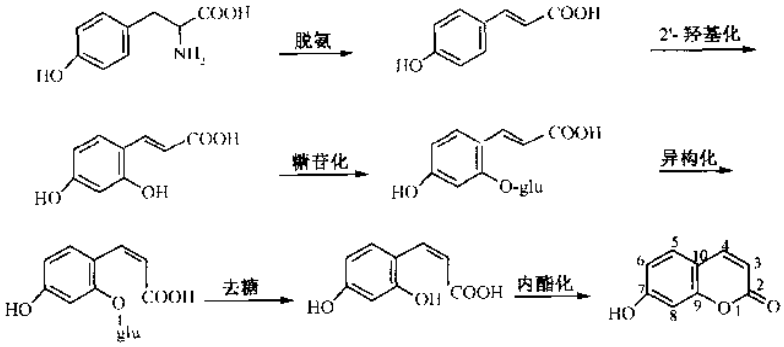
香豆素的分类,目前有两种:一种是 Murray 所用的分类法,即主要根据香豆素中含氧取代基的数量和位置来分;另一种是常见分类法,即按生源途径所形成的几种基本骨架来分。本节主要采用后一分类。

香豆素一般可分为四大类:简单香豆素、呋喃香豆素、吡喃香豆素和其他香豆素。

一、简单香豆素类

简单香豆素类是指只在苯环上有取代基的香豆素,已知绝大部分的香豆素在 C-7 都有含氧官能团存在,仅少数例外,故 7-羟基香豆素即伞形花内酯(umbelliferone)可认为是香豆素类的母体。

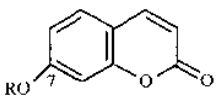
香豆素母体在植物体内可来自苯丙氨酸(phenylalanine)或酪氨酸(tyrosine),伞形花内酯的可能生源途径之一可表示如下:



伞形花内酯中苯环的 C-5、C-6、C-8 位都可能有含氧基团取代,常见的为羟基、甲氧基、亚甲二氧基、异戊烯氧基等,并可分为一氧、二氧、三氧、四氧取代物。异戊烯基除接在氧上外,也可直接连在碳上。

常见的简单香豆素列举如下:

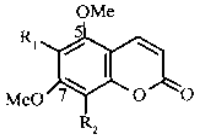
(1) 一氧取代 (7-O-)



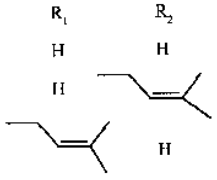
	R
伞形花内酯 (umbelliferone)	H
赫尼亚林 (herniarin)	Me
黄芩苷 (skimmin)	glu

(2) 二氧取代

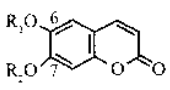
5,7-二-O:



白柠檬素 (limettin)
九里香内酯 (coumarrayin)
当归内酯 (angelicone)

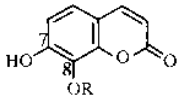


6,7-二-O:



	R_1	R_2
七叶内酯 (esculetin)	H	H
东莨菪内酯 (scopoletin)	Me	H
东莨菪苷 (scopolin)	Me	β-glu
滨蒿内酯 (scoparone)	Me	Me

7,8-二-O:

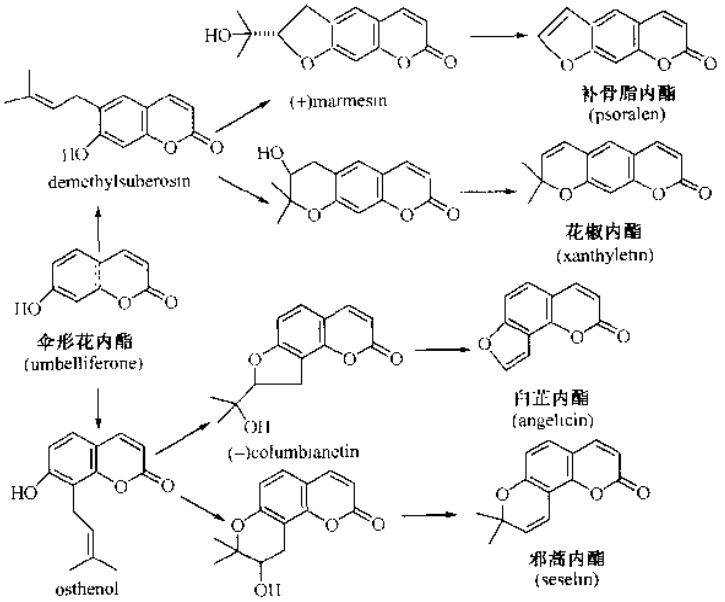


	R
瑞香内酯 (daphnetin)	H
hydrangetin	Me

二、呋喃香豆素类

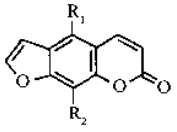
在7-羟基香豆素的6位或8位有异戊烯基时，很易与邻位酚羟基环合形成呋喃环或吡喃环，前者为呋喃香豆素类(furanocoumarin)，后者为吡喃香豆素类(pyranocoumarin)，每类中因成环后与母体稠合的位置不同，又可再分成两种，如该环处于与香豆素母体同一直线上，称为线型(linear)；如环处于香豆素母体的折角线上，称之为角型(angular)。

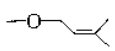
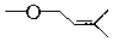
下面是由伞形花内酯形成呋喃香豆素和吡喃香豆素的生源过程：



1. 6,7-呋喃骈香豆素类

补骨脂内酯是6,7-呋喃骈香豆素即线型呋喃香豆素类的代表，故该类又称补骨脂内酯型香豆素。在线型呋喃香豆素中的含氧基或异戊烯氧基常位于C-5和C-8位。例如：

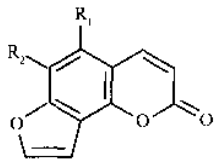


	R_1	R_2
补骨脂内酯(psoralen)	H	H
花椒毒酚(xanthotoxol)	H	OH
香柑内酯(bergapten)	OMe	H
花椒毒内酯(xanthotoxin)	H	OMe
异茴芹内酯(isopimpinellin)	OMe	OMe
欧前胡内酯(imperatorin)	H	
异欧前胡内酯(isoimperatorin)		H

线型呋喃香豆素也可以未降解的二氢呋喃香豆素形式存在。

2. 7,8-呋喃骈香豆素类

白芷内酯又名异补骨脂内酯(isopsoralen)是角型的7,8-呋喃骈香豆素类的代表,故该类又称异补骨脂内酯香豆素。角型呋喃香豆素中的含氧基或异戊烯氧基常位于C-5和C-6位,例如:



	R_1	R_2
白芷内酯(angelicin)	H	H
6-羟基白芷内酯(heratonol)	H	OH
6-甲氧基白芷内酯(sphondin)	H	OMe
异香柑内酯(isobergapten)	OMe	H
茴芹内酯(pimpinellin)	OMe	OMe

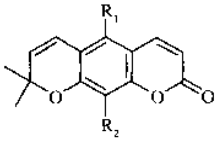
角型呋喃香豆素同样也可以未降解的二氢呋喃香豆素存在。

三、吡喃香豆素类

吡喃香豆素也有线型和角型两种,即6,7-吡喃骈香豆素和7,8-吡喃骈香豆素。此外,也有少数在5,6位形成吡喃环或同时在5,6位和7,8位存在两个吡喃环,形成双吡喃骈香豆素。

1. 6,7-吡喃骈香豆素类

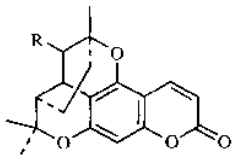
6,7-吡喃骈香豆素类以花椒内酯为代表,常见的化合物是在花椒内酯的C-5,C-8上连有含氧基或异戊烯基。例如:



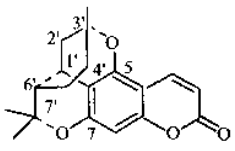
	R_1	R_2
花椒内酯(xanthyetin)	H	H
美花椒内酯(xanthoxyletin)	OMe	H
鲁望橘内酯(luvangetin)	H	OMe
枸橘内酯(poncitrin)	OMe	

近年发现另一类吡喃香豆素,属五环含萜结构,以bruceol为代表[5]。

这一类型可看成是6-geranyl-5,7-dioxycoumarin中5-O和7-O分别与牻牛儿基(geranyl)单位中的C-3′和C-7′相连,C-1′则与C-6′形成C—C键(见右边结构中的虚线部分)进行环化而成。C-2′上的R也可是不同的五碳链,从而构成一系列2′-deoxybruceol型的倍半萜类香豆素,如从芸香属植物 *Eriostemon myoporoides* 中就分离得到7个此类新香豆素[6]。

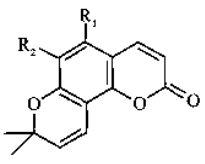


bruceol
R=OH



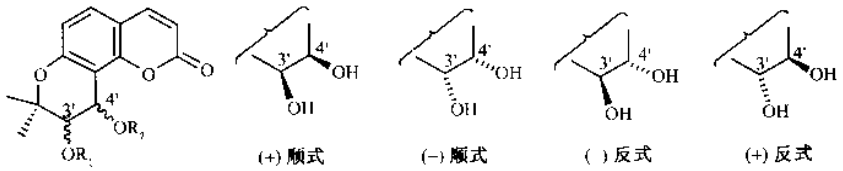
2. 7,8-吡喃骈香豆素类

7,8-吡喃骈香豆素类以邪蒿内酯为代表,含氧基常见连于C-5或C-6上,例如:

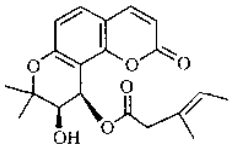


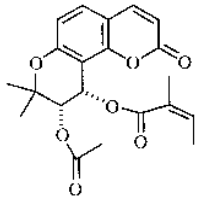
	R_1	R_2
邪蒿内酯 (seselin)	H	H
5-羟基邪蒿内酯(5-hydroxyseselin)	OH	H
去甲布拉易林 (norbraylin)	H	OH
5-甲氧基邪蒿内酯 (5-methoxyseselin)	OMe	H
布拉易林 (braylin)	H	OMe

近年从前胡属(*Peucedanum* L.)植物根中分离得到一系列角型二氢吡喃骈香豆素化合物,它们为凯林内酯(khellactone)的一酰化或二酰化衍生物,其中有的具有显著的冠状动脉扩张作用[7]。凯林内酯(R_1 = R_2 = H)有多种立体构型:



例如,从中药白花前胡(*Peucedanum praeruptorum* Dunn)根中分离得到前胡香豆素 A～E(qianhucoumarin A～E)[8~10];从南岭前胡(*Peucedanum longshengense* Shan et Sheh)中则分离得到南岭前胡 A(longshengensin A)[11]。此类化合物中成酯的酰氧基常见的有乙酰氧基(acetoxy)、当归酰氧基(angeloyloxy)、惕各酰氧基(tigloyloxy)、2-甲基丁酰氧基(2-methylbutyryloxy)、异戊酰氧基(isovaleryloxy)、千里光酰氧基(senecioxy)等。



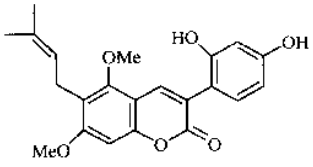


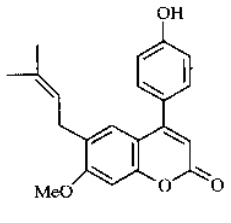
四、其他香豆素类

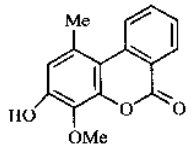
这是一类 α-吡喃酮环的 C-3、C-4 位上有取代基的香豆素,以及香豆素的二聚体等。

1. 3-或 4-苯代衍生物

除 3-苯代和 4-苯代外,也有以 3,4-苯骈的结构存在。例如:

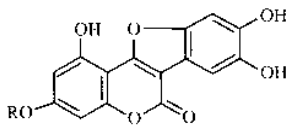




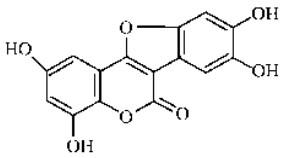


2. 4-氧代衍生物

4-氧代香豆素常以—OH 或—OMe 取代存在,4-氧代也可与 3-苯代同时存在于结构中。4-羟基和 3-苯代两者尚能构成一类称为香豆草醚类(coumestan)化合物,如最近我国学者张金生等从中药旱莲草(*Eclipta prostrata* L.)中分离得到一系列蟛蜞菊内酯(wedelolactone)衍生物,其中包括新化合物异去甲蟛蜞菊内酯[12]。

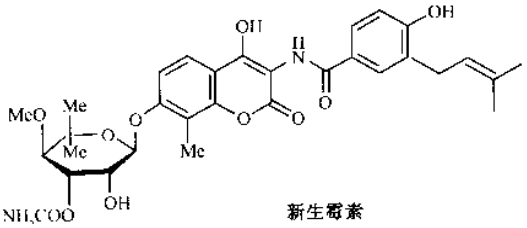


蟛蜞菊内酯 (wedelolactone) R=CH_3
去甲蟛蜞菊内酯 (demethylwedelolactone) R=H



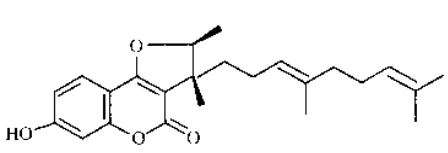
异去甲蟛蜞菊内酯 (isodemethylwedelolactone)

新生霉素(novobiocin)则是4,7-二羟基香豆素的含N糖苷,为链霉菌的代谢产物,用作抗菌素。

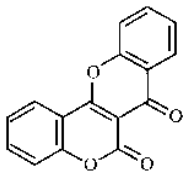


新生霉素

4-OH尚可与3位的异戊二烯单位链形成一类新的prenyl-furocoumarin型倍半萜衍生物,如最近从多伞阿魏(*Ferula ferulaeoides*)中分离得到多种此类化合物[13]。4-OH也可在3,4位构成一类色原酮香豆素,如存在于远志属植物 *Polygala fruticosa* 中的frutinone A。



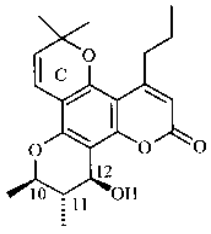
prenyl-furocoumarin type sesquiterpenoid derivative



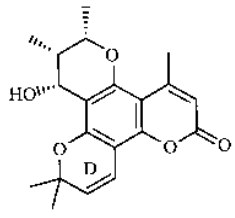
frutinone A

3. 胡桐内酯类

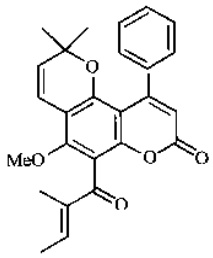
胡桐内酯类(calanolide)是近年从藤黄科(Guttiferae)胡桐属(*Calophyllum* L.)植物中分离得到的一类香豆素,这是一类新的非核苷型的HIV-1逆转录酶抑制剂。其基本结构为4-烷基(甲基或丙基)或苯基取代的双吡喃骈香豆素,胡桐属中这类香豆素可分为三种类型[14],即偕二甲基可在C环(如calanolide A),或在D环(如pseudocordatolide C),或D环未成环(如callophylloide)。分自 *Calophyllum lanigerum* var. *austrocoriaceum* 的(+)-calanolide A是该类活性结构的代表物[15]。



(+)-calanolide A



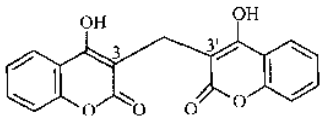
(+)-pseudocordatolide C



海棠果内酯
callophylloide

4. 二聚体类

dicoumarol 是早在 1914 年就被发现具抗血小板聚集活性的双香豆素，其后不少新二聚体相继被发现。既有简单香豆素之间相连，也有吡喃香豆素之间以线-线型或线-角型相连。连接方式既可以是直接相连，也可以是通过氧、亚甲基或某一结构单位相连。连接的位置也不尽相同，但较多的是一个香豆素的 C-8 与另一香豆素的 C-3、C-5、C-6、C-8 直接相连，也有如 dicoumarol 以 C-3—CH_2—C-3′形式连接。



dicoumarol

最近报道了不少新双香豆素被发现，如我国学者徐任生等从瑞香狼毒（*Stellera chamaejasme* L.）中分离得到一新的双香豆素 bicoumastechamin[16]（参见本章第六节研究实例二）。又如最近从黄连木（*Pistacia chinensis* Bunge）分离得到一新的 4-芳基取代的双香豆素，则具有雌激素样活性[17]。此外，从中药蛇床[*Cnidium monnieri* (L.) Cusson]中则分离得到两个（8-8′和 8-5′）非直接相连的新双香豆素 cnidimonal 和 cnidimarin[18]。

第三节　理化性质

游离香豆素通常为结晶固体，具芳香气味，有一定熔点，能随水蒸气挥发或升华。香豆素不溶或难溶于水，但可溶于石油醚、苯、乙醚、氯仿或乙醇等溶剂中。

一、荧　　光

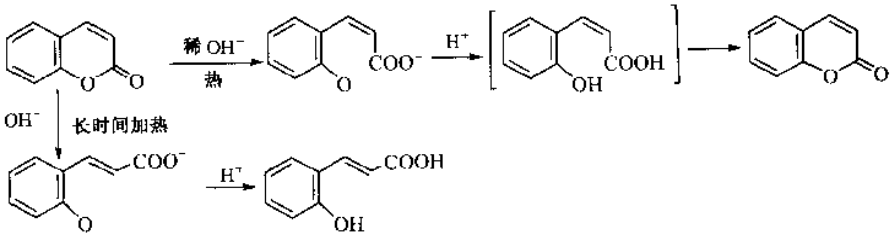
荧光是香豆素的一个特有物理性质，在紫外光下，常显蓝色荧光。通过荧光人们很易辨认出它们的存在。当 C-7 位引入羟基后，可使荧光增强，即使在可见光下，也能观察到荧光。一般羟基香豆素遇碱后，荧光会加强，有的可使荧光变色，7-羟基香豆素加碱后，荧光可从蓝色变绿色。一般非羟基取代基或羟基醚化后可使荧光减弱，并转为紫色。呋喃香豆素的荧光较弱，且在苯环上具有两个烷氧基取代的呋喃香豆素自身带有黄色，在紫外光下可变为褐色[19]。

最近 Takadate[20]等研究了一系列甲氧基香豆素的结构与荧光强度和呈色之间的关系，从中发现了不少规律，可作为参考。

二、与碱反应

1. 内酯环的开裂

香豆素用热稀碱液处理，其内酯环可缓慢水解开裂，成为顺邻羟基桂皮酸盐而溶解成一黄色溶液。如再酸化，生成的游离顺邻羟基桂皮酸极不稳定，可闭环重新内酯化，得到原来的香豆素。如香豆素长时间放置在碱液中，则顺式盐可转变为反式盐，此时再酸化，就不再内酯化而可得稳定的反邻羟基桂皮酸。



香豆素的内酯开环反应可用来与其他植物成分的分离，先使香豆素在碱液中开环溶解，然后用乙醚提取除去其他成分后，再酸化使香豆素沉出。

香豆素的C-8侧链的适当位置上如有羧基、环氧、双键等基团，就会阻碍内酯环的恢复，从而得到的是邻羟基桂皮酸的衍生物，据此曾被用于结构研究。

2．侧链酯基水解

香豆素侧链上的酯基如处在苄基碳上极不稳定，易被碱水解。

例如，(+)-*cis*-凯林内酯二元酯，其C-3′、C-4′为顺式结构，碱水解时，处于苄基的4′-酯基经水解后，可生成顺式和反式两种异构化的醇，而C-3′-酯基在稀碱条件下可保留。这一反应对鉴定凯林内酯类香豆素的构型极为有用。

三、与酸反应

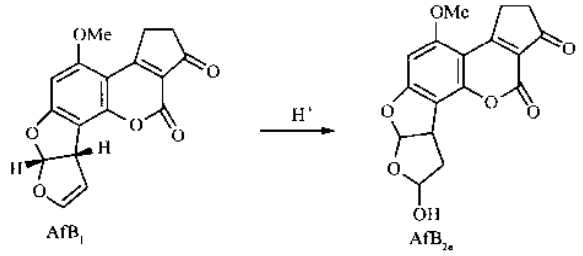
香豆素受酸作用，可进行多种反应，包括醚键开裂、环化、烯键水化、羟基脱水、环氧开裂、酯基消去等。

1．烯丙基醚的开裂

不少香豆素常含有异戊烯基(prenyl)、牻牛儿基(geranyl)或法呢基(farnesyl)等成醚结构，其中均存在烯丙基醚部分，当在温和的酸性条件下，短时微热，就能水解成酚羟基。

2．烯键水化

在酸催化下，香豆素分子侧链中的双键可被水化，导入羟基。例如，高毒性的黄曲霉素(aflatoxin，Af)B_1经酸催化加水可生成低毒性的黄曲霉素B_{2a}。这一反应提示酸处理有可能是被污染食品去毒的一种方法。



AfB_1 AfB_{2a}

第四节 提取和分离

一、提 取

石油醚对大多数含氧香豆素的溶解性并不好，但可用以除去其他脂溶性成分，对以后的处理还是十分有用的。

乙醚虽可溶解多数香豆素，但能溶出其他脂溶性成分也多，特别当用叶为原料时，则常与叶绿素、蜡质等混溶在一起，W. Steck和B. K. Bailey曾报道一个除去叶绿素等脂溶性成分的有效方法[19,1]。例如，圆当归(*Angelica archangelica* L.)新鲜叶子中含有众多呋喃香豆素，它们常与叶绿素等混溶于沸甲醇中，此时，可将其滤液调节成60%甲醇水溶液，用正己烷洗涤两次以除去叶绿素和其他脂溶性物质。正己烷洗液可用60%甲醇水液反萃取一次，并入所要的甲醇液中。浓缩甲醇水溶液，然后用乙醚萃取，即可回收得香豆素。

也有在开始时不先除去脂类和蜡，而是将含香豆素的植物原料用丙酮提取，提取液浓缩至原体积的1/3，过滤除去析出的焦油，丙酮蒸干后，残渣溶于氯仿上柱分离，此时可先用已烷洗脱以除去脂类和蜡。

Bourgaud等[21]曾通过使用不同溶剂，对植物中所含香豆素或呋喃香豆素的提取量做了分析比较。结果

可供参考。

二、分离和纯化

香豆素的分离方法，可分为两大类：一类是经典法；另一类是目前常用的色谱法。

1. 经典分离法

(1) 内酯分离

内酯分离(lactone separation)是早期分离香豆素的一个常用方法。通过香豆素的内酯环在碱性条件下，水解开环，酸化后又能闭环的特性而与其他成分分开[19]。

此法简单易行，缺点是某些结构的香豆素可阻碍内酯环的恢复或闭环时会发生异构化。

(2) 分步结晶

分步结晶(fractional crystallization)是早期曾被广泛应用的分离手段。可单独使用也可结合分步沉淀(fractional precipitation)进行。由于大多氧代香豆素在石油醚中的低溶解度，因此在香豆素的乙醚萃取液中，逐步加入石油醚，可使不同溶解度的香豆素分步沉出。

(3) 真空升华和水蒸气蒸馏

对于耐热稳定的香豆素，高真空升华是一种简便的纯化方法，但需注意加热有可能会诱导分子重排或降解。例如，受热可导致某些香豆素分子中的异戊烯氧基长链失去而形成酚羟基。水蒸气蒸馏也曾被用来分离某些相对不稳定易分解的酚性香豆素。例如，花椒内酯就是利用水蒸气蒸馏与其他香豆素成分分开。

2. 色谱分离法

色谱是目前应用于香豆素的一种最普遍而有效的分离和纯化手段，其中以柱色谱和薄层色谱用得最多，通常几种色谱手段的配合或反复使用，往往能取得分离和纯化的较好效果。

(1) 吸附剂的选择

由于香豆素结构易变，故对柱色谱的几种常用吸附剂应有所选择。

1) 碱性氧化铝常会使香豆素分子发生降解，故必须慎用。一般酸洗过氧化铝和中性氧化铝分离效果较好，但酸性氧化铝对羟基香豆素吸附力很强，有时难以洗脱。

2) 硅胶是目前使用最普遍的吸附剂，常用的混合洗脱剂有己烷-乙醚、己烷-EtOAc、石油醚-EtOAc、石油醚-Me_2CO 等。近年不少新化合物都是利用硅胶柱色谱为主分离得到。应注意硅胶的酸性可使某些具有邻二醇基侧链的香豆素产生频哪醇-频哪酮(pinacol-pinacolone)重排，从而形成次生产物。

3) 其他用于柱色谱吸附剂尚有聚酰胺、活性炭、十八烷化硅胶、Sephadex LH-20 及大孔树脂等。它们也常与硅胶柱配合使用，Sephadex LH-20 作为分子排阻色谱，常用于最终产物的纯化。例如，两者原难以分离的蟛蜞菊内酯和去甲蟛蜞菊内酯即利用 Sephadex LH-20 才分离成功。

(2) 不同色谱方法的配合使用

近年使用不同压力下的制备性液相色谱如 flash 色谱、LPLC、MPLC 和 HPLC 等对结构相近的香豆素的分离和纯化起了很大作用。分析型 HPLC 是发现微量香豆素的一个极为有效的手段。此外，近年发展的毛细管电泳法也已用于香豆素的分析[22]。

减压液相色谱(VLC)常用于植物粗提物的初步分离。例如，从芸香属植物 *Eriostemon myoporoides* 中分离得到 7 个新的倍半萜型香豆素就是先经硅胶 VLC 粗分然后再经离心 P-TLC 细分而得[6]。

香豆素的薄层色谱(TLC)展开剂常用的有 EtOAc-己烷、EtOAc-$CHCl_3$ 等，其斑点可在 UV 下观察荧光。

P-TLC 常用于对已部分分离的香豆素做进一步分离。CTLC 和 OPLC 在香豆素分离中，既可以其为主，也可配合其他色谱使用。

第五节 波 谱 鉴 定

结构已知的香豆素常可利用色谱分析数据，经与标准品对照即可确定，特别是目前色谱与波谱联用技术的发展，如 LC/UV/MS 等在线分析，无需分离得到纯品即可检出。对未知新化合物目前仍需离线分离取得一定量的样品，以便进行结构鉴定和活性测试。无论是在线或离线，波谱手段仍然是当前鉴定香豆素最有力的工具。

一、紫 外 光 谱

香豆素的紫外光谱(UV)很容易与色酮(chromone)的相区别，尽管两者差别仅羰基在吡喃酮环上的位置不同，但色酮的 λ_{max} 一般在 240～250 nm(lgε 3.8)呈强吸收，而香豆素在这一区域却吸收最弱。

1. 简单香豆素

(1) 烷基取代

一般甲基引入香豆素后对香豆素的最大吸收波长的位移影响很小，但不同取代位置仍有差别(表 15-2)。

表 15-2

香豆素结构	苯环吸收 λ_{max}(lgε)/nm	吡喃酮环吸收 λ_{max}(lgε)/nm
香豆素母核	274 (4.03)	311 (3.72)
3-Me 取代	不变	稍微蓝移
5-,7-,8-Me 取代	红移	不变
长链烷基(本身无发色性质)取代	无明显变化	

(2) 氧代基团

绝大部分香豆素在 C-7 都带有氧取代基，一般在香豆素母核中引入羟基会使主要吸收带红移，移动后的新吸收带的位置取决于该羟基与发色系统共轭能力的大小(表 15-3)。

表 15-3

香豆素结构	λ_{max}(lgε)/nm
7-OH,7-OMe, 7-β-D-glucosyloxy	~217 和 315～330(~4.2),240 和 255(~3.5) (肩或弱峰)
5,7-二 *O*-;7,8-二 *O*-	吸收类似 7-*O*-取代，但 250～270(3.8～3.9)与之相比稍强
6,7-二 *O*-	~230 和 340～350(呈两个最大吸收)，~260 和~300(3.7～3.8)(两个强度几相等)
5,6,7-三 *O*-	325～330(呈最大吸收，谱图与 5,7-二 *O*-相近)
6,7,8-三 *O*-	335～350(呈最大吸收，谱图与 6,7-二 *O*-十分近似)

(3) 诊断试剂

4-,5-或 7-羟基香豆素成盐后，其酚氧离子可与吡喃酮的羰基形成电子离域，故在碱性介质中，其 UV 谱的最大吸收将明显红移，且强度增加，如 7-羟基香豆素，其长波带可从 325 nm(lgε 4.15)移至 372 nm(lgε 4.37)，而 6-和 8-羟基香豆素在碱性中虽也红移，但强度下降。

如碱性试剂改用乙酸钠，由于乙酸钠为弱碱，只能使酸性较强的羟基如 5-OH、7-OH 离子化，如 7-羟基-6-甲氧基香豆素的 λ_{max} 可从 344 nm 移至 391 nm，且强度增加，而 6-羟基-7-甲氧基香豆素的 λ_{max} 则从 347

nm仅移至350 nm，几乎不变，且强度明显下降。

谱带位移也可应用其他无机试剂作结构诊断，如氯化铝可与邻二羟基香豆素络合而形成大小不等的红移；7,8-二羟基香豆素瑞香内酯仅红移7 nm而6,7-二羟基香豆素七叶内酯可红移达28 nm，从而可与5,7-二羟基香豆素相区别。

2. 呋喃香豆素

线型呋喃香豆素补骨脂内酯的紫外光谱可显示四个吸收区：λ_{max}(lgε)为205～225 nm(4.0)、240～255 nm(4.06～4.45)、260～270 nm(4.18～4.26)和298～316 nm(3.85～4.13)。它很易与角型呋喃香豆素白芷内酯相区别，因在线型系统中的特征吸收242～245 nm和260～270 nm在角型中就不存在。

补骨脂内酯的C-5或C-8单氧取代物，彼此也可经UV区别，前者在～268 nm的吸收峰，在后者就不存在；前者在310 nm的吸收，在后者则出现在～300 nm。

二、红外光谱

香豆素的几个常用的红外吸收频率如下：

1. C—H伸缩振动

在呋喃香豆素的3025～3175 cm^{-1}区内，可见两个或三个弱至中等强度的吸收带，可归属于吡喃酮、苯、呋喃环的C—H伸缩振动。

2. C═O伸缩振动

1) 香豆素与色酮这两类化合物可用C═O伸缩振动加以区分，前者在1700～1750 cm^{-1}，后者则在～1650 cm^{-1}。

2) 香豆素中吡喃酮羰基的伸缩振动一般在1700～1750 cm^{-1}，其实际数值很大程度上取决于测定条件，在CCl_4中为1742～1748 cm^{-1}，在$CHCl_3$中为1735～1737 cm^{-1}，如制成糊、膜、片，则为～1720 cm^{-1}。

3) 补骨脂内酯的C-5连有OR，其C═O吸收(石蜡糊中)高于1720 cm^{-1}，如C-8连有OR，则低于1720 cm^{-1}。

4) 吡喃香豆素的C═O在1717～1730 cm^{-1}显示一强吸收带，而二氢吡喃香豆素则移至1735～1750 cm^{-1}。

5) 7-O或6-O香豆素苷的C═O吸收一般低于1700 cm^{-1}。

6) 吡喃酮C═O的伸缩振动可因形成分子内氢键而移动，如3-芳基香豆素在芳基的C-2′上存在游离OH可与C═O形成内氢键而使C═O吸收处在1600～1680 cm^{-1}。双香豆素dicoumarol的C═O处于1660 cm^{-1}也可归因于分子的两半之间存在较强的分子内氢键。

3. C═C骨架振动

香豆素一般在1600～1660 cm^{-1}区域内有三个强吸收带，可与色酮相区别，因后者的吸收一般简单得多。

呋喃香豆素除有～1500和～1600 cm^{-1}的芳香吸收带外，在1613～1639 cm^{-1}区内的一个强而尖锐的吸收可归因于呋喃环的C═C伸缩振动。

4. 其他吸收

呋喃香豆素在1088～1109 cm^{-1}和1253～1274 cm^{-1}区内的两个吸收带是呋喃环的特征C—O伸缩振动，而在740～760和870～885 cm^{-1}区内的带则分别归于呋喃C—H键的面内和面外的弯曲振动。IR也可用以区分香豆素中所含2′-羟基异丙基二氢呋喃和3′-羟基-2′,2′-二甲基二氢吡喃这两种异构体，前者叔醇羟基的弯曲振动和C—O的伸缩振动分别在1410 cm^{-1}和1149 cm^{-1}；后者仲醇羟基的相应峰则在1295 cm^{-1}和1090 cm^{-1}。

三、核磁共振谱

核磁共振谱是目前鉴定香豆素结构最有效的工具，不少解析规律已被归纳总结[1]。

(一) ^{1}H-NMR

1. 环上质子

(1) H-3 和 H-4 的化学位移(δ)和偶合常数(J)。

1) 在 $CDCl_3$ 中的 δ 6.1～6.4 和 7.5～8.3 的一对 d 峰，J = 9.5Hz，分别提示为吡喃酮环上的 H-3 和 H-4，如溶剂为 DMSO-d_6，则 H-3 和 H-4 的 δ 分别为 7.8～8.1 和 8.1～8.3。与其他芳 H 的 δ 值相比，一般 H-3处最高场，而 H-4 处最低场。

2) 绝大部分天然香豆素的 C-7 具有氧代基团，可使 H-3 高场位移～0.17 ppm，这是由于氧代基团释放电子，导致 C-3 电子密度增加，H-3 受屏蔽之故。如 C-5 氧代，虽也有类似效应，但较弱，因电子释放形成的邻醌型电荷分布不及 C-7 氧代形成的对醌型为稳定。

3) C-5 无氧代基团，则 H-4 一般处于 δ 7.5～7.9 范围，如 C-5 有氧代基团或烷基取代，则 H-4 因迫位(peri)效应而低场位移～0.3 ppm。

(2) H-5、H-6 和 H-8 的化学位移(δ)和偶合常数(J)

1) 对 7-O 代香豆素，H-5 和 H-6 因邻位偶合，按理应为一对 d 峰，但由于 H-6 尚与 H-8 存在间位偶合，加上两者的化学位移相近，信号往往重叠，故实际上一般 H-5 为 δ 7.38(1H)的 d 峰(J = 9Hz)，处于较低场，而 H-6 和 H-8 为 δ 6.87(2H)的 m 峰，处于较高场。苯环上的这三个芳 H 信号常处于 H-3(最高场)和 H-4(最低场)这一组 d 峰信号之间。

2) H-5 被氧代，H-6 与 H-8 可形成一对 J = 2Hz 的 d 峰，如 d 峰中任一氢被碳取代，则另一质子信号就变为单峰。由于 H-6 与 H-8 的化学位移相近，一般单从 δ 值往往难以区分，但仔细观察，可看到 H-8 尚与 H-4存在着 J = 0.6～1.0Hz 的远程偶合。

3) 当 C-8 存在—R 或—OR 基，则 H-6 与 H-8 无间位偶合，可见 H-5 和 H-6 为一对 d 峰(J = 9.0Hz)，H-5处于较低场(δ 7.3)，H-6 处于较高场(δ 6.8)。

4) 7-O,6-R 二取代香豆素的氢谱易与 7-O,8-R 取代的相区别，前者的 H-5 和 H-8 分别为 δ～7.2 和 δ～6.7的单峰，而后者，则 H-5 和 H-6 形成一对 d 峰。

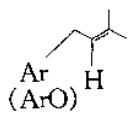
2. 环上取代基

天然香豆素中环上取代侧链最常见除甲基、乙基外，就是异戊烯基及其衍生物，它们可直接连于芳环或经氧形成醚键。常见的氢谱数据如下：

1) Ar—Me：δ 2.45～2.75

Ar—OMe：δ 3.8～4.4

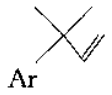
2)



异戊烯基(3-甲基-丁-2-烯基)：

2Me (不等价)	δ 1.6～1.9 (s)，也可能因烯丙偶合，其中一个或两个 Me 显示 J～1Hz 的裂分
=CH	δ 5.1～5.7(t,br, J = 7Hz)
Ar—CH_2	δ 3.3～3.8(2H, d, J = 7Hz)
Ar—O—CH_2	δ 4.3～5.0(2H, d, J = 7Hz)

3)



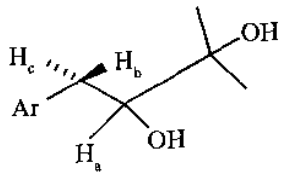
1, 1-二甲基烯丙基:

2Me　δ 1.5(6H, s)

$=CH_2$　δ 5.1(2H, m)

=CH　δ ~6.25(1H, dd, J=18, 10Hz)

4)

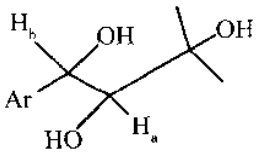


2,3-二羟基异戊基:

Me　　H_a　　H_b,H_c

δ:1.1~1.3 (s)　3.3~5.0 (dd)　2.4~3.5(dd)　(dd)

5)



1,2,3-三羟基异戊基:

Me　　H_a　　H_b

δ 1.1~1.4 (s)　3.0~3.8　5.0~5.5 (1,2-threo,d,J=6.5~8.0Hz; 1,2-erythro,s,br.)

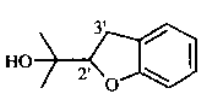
3. 呋喃香豆素和吡喃香豆素

未取代的呋喃环易通过 H-2′和 H-3′的一对烯质子的 d 峰(J~2.5Hz)来识别,一般 H-2′的 δ 为~7.5~7.7;H-3′的 δ 为~6.7(线型)或~7.0(角型)。H-3′的 d 峰常因存在五键的远程偶合(J~1Hz)而加宽,在线型中,H-3′是与 H-8 远程偶合;在角型中,H-3′是与 H-6 远程偶合。

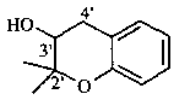
吡喃环中 C-2′上的两个同碳 Me 形成一个 δ~1.45 的 6H 单峰,C-3′和 C-4′上的两个烯质子呈一对 d 峰,J=10Hz,H-3′中心为 δ 5.3~5.8;H-4′中心为 δ 6.3~6.9。

4. 二氢呋喃香豆素和二氢吡喃香豆素

区别羟基异丙基二氢呋喃结构(**1**)和羟基二甲基二氢吡喃结构(**2**)是鉴定天然香豆素中常会遇到的问题。



1



2

在结构**1** 中 H-3′亚甲基和 H-2′次甲基组成了 A_2X 系统,给出了很易判断的 2H 的 d 峰和 1H t 峰;在二氢吡喃结构**2** 中,H-4′亚甲基和 H-3′次甲基则构成 ABX 系统,表现为 2H m 峰和 1H t 峰。

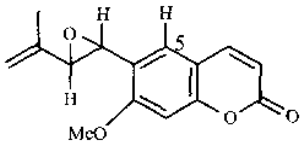
1 和**2** 中的羟基经乙酰化后(仲醇易反应),两者的次甲基质子信号都向低场位移,对**1**,H-2′位移~0.25

ppm；对**2**，H-3′位移可达 1.2 ppm，可用以区别这两种不同的羟基。此外，利用 DMSO 为溶剂，由于溶剂的强氢键缔合，降低了羟基质子的交换速率，因此，**2** 中的仲羟基可因与 H-3′的偶合而显 *d* 峰，而**1** 中的叔羟基则为单峰。

5．远程偶合

1）^5J 偶合。除补骨脂内酯的 H-3′与 H-8 间以及白芷内酯的 H-3′与 H-6 间存在远程偶合外，H-4 与 H-8 间也存在$^5J=0.4\sim0.8$ Hz 的远程偶合。这一偶合在低兆周核磁共振谱中，可见 H-4 的 *d* 峰高度比 H-3 的有所下降。

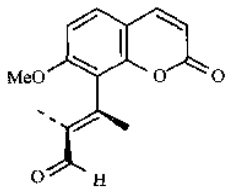
2）^4J 偶合。线型二氢呋喃香豆素中的 H-3′和线型二氢吡喃香豆素中的 H-4′均属苄基质子，它们均能与 H-5 存在^4J的远程偶合。这种^4J远程偶合也可被利用对某些香豆素的结构鉴定。例如，从 thamnosmin 的 H 谱中，可见 δ 7.23 的 H-5 信号相当宽，提示存在着某种远程偶合，当照射 H-5 去偶，δ 4.07 的 dd 峰变为 d 峰，$J=2.0$ Hz，提示环氧上的两个质子处于反式，被去偶的苄基质子与 H-5 之间存在$^4J=0.65$ 的远程偶合。



thamnosmin

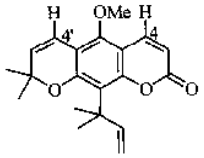
6．NOE

1）利用 NOE 可证明香豆素中某些不饱和侧链的几何异构。例如，利用 NOE 鉴定 murralongin 侧链中双键的立体构型，当照射 δ 2.42 的苄基甲基，使之饱和，可见在 δ 10.24 的醛基质子信号强度增加 25%～30%，从而证明醛基质子与苄基甲基空间靠近，即双键的两个 Me 处于反式。此外，两个 Me 与 7 位 OMe 均无 NOE，进一步表明共轭的醛基侧链系统与香豆素环不处于共平面。



murralongin

2）NOE 对苯环四取代的香豆素的结构鉴定特别有用。例如，利用 NOE 确定枸桔内酯中 OMe 所在位置。当照射 δ 3.82 的 OMe 使之饱和后，可见吡喃酮环上的 H-4 和吡喃环上的 H-4′的信号强度分别增加 9%和 13%，表明 OMe 必靠近 H-4 和 H-4′而应位于 C-5，同时进一步证明吡喃环为线型稠合。



枸桔内酯

（二）^{13}C-NMR

1．香豆素母核的^{13}C-NMR 及其一般取代效应

香豆素分子骨架共有 9 个碳原子，均为 sp^2 杂化，其^{13}C-NMR 的化学位移在 100～160 ppm 区域内，其中 C-2 和 C-9 因受共轭或超共轭效应的影响而偏在低场（表 15-4）。

表 15-4　香豆素母核各碳的 δ 值($CDCl_3$)[1,23]

C	2	3	4	5	6	7	8	9	10
δ	160.4	116.4	143.6	128.1	124.4	131.8	116.4	153.9	118.8

对大多数香豆素，羰基碳(C-2)的 δ 值几乎相同，都在 160 ppm 左右。当苯环 H 被 OH 或 OMe 取代后，新形成的季碳信号将向低场位移约 30 ppm，而其邻位和对位碳信号则高场位移分别为～13 和～8 ppm，间位碳一般影响较小，特别是 Me 和 COOH 取代，间位影响几可忽略。以 7-羟基香豆素为例见表 15-5。

表 15-5　7-羟基香豆素各碳的 δ 值(DMSO-d_6)[24]

C	2	3	4	5	6	7	8	9	10
δ	160.7	111.5	144.3	129.6	113.3	161.6	102.5	155.7	111.5

将 7-OH 香豆素的碳谱与香豆素相比，可见 7-OH 的邻、对和间位的 $\Delta\delta_c$ 基本符合上述的一般规律。

2．取代基效应的经验规律

Mikhova 等[25]曾报道了各种单取代香豆素的取代基效应(substituent chemical shift，SCS)，如香豆素分子中存在一个以上取代基时，可按各个基的 SCS 进行加和，如取代基之间存在分子内的相互作用，则尚需考虑非加和性效应(non-additivity effect，NA)。根据 NA 参数($\delta_{exp}-\delta_{cal}$)，可调整计算所得的加和值，从而来验证实验值。SCS 和 NA 的具体值可参阅相关文献[25]。

3．呋喃香豆素和吡喃香豆素的^{13}C-NMR

以补骨脂内酯和邪蒿内酯的碳谱数据为例，线型与角型的差别主要可见于表 15-6 和表 15-7 中 C-6 和 C-8 的变化，据此不难加以鉴别。

补骨脂内酯(线型呋喃香豆素)[26]

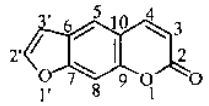


表 15-6

C	2	3	4	5	6	7
δ	161.1	114.7	144.2	120.0	**125.0**	156.6
C	8	9	10	2′	3′	
δ	**99.6**	152.2	115.6	147.0	106.6	

邪蒿内酯(角型吡喃香豆素)[27,24]

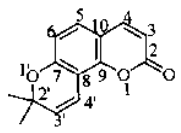


表 15-7

C	2	3	4	5	6	7
δ	160.4	112.2	143.5	127.5	**114.6**	155.9
C	8	9	10	2′	3′	4′
δ	**108.8**	149.8	112.2	77.2	130.4	113.1

孙汉董等[28]曾报道以补骨脂内酯的 δ_c 值为基数，总结了 C-5 或 C-8 单烷氧基取代和 C-5，8 二烷氧基取代这三类衍生物的取代效应，结果可供参考。

(三) 2D-NMR 在香豆素结构鉴定中的应用

除 1D-NMR 外，2D-NMR 目前已广泛被应用于鉴定某些结构较复杂的或新颖结构的香豆素，如从中药白花前胡(*Peucedanum praeruptorum* Dunn)[29]及最近从刺异叶花椒(*Zanthoxylum dimorphophyllum* Hem-

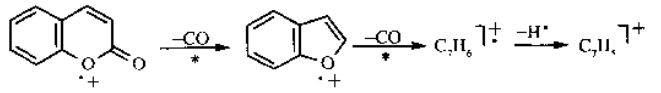
sl. var. *spinifolium* Rehd. et Wils)[30]和云南羌活[*Pleurospermum rivulorum* (Diels)][31]中分离得到的新香豆素，其结构都是通过 2D-NMR 来完成的。

2D-NMR 也曾用于研究某些香豆素立体构型的碳谱规律。例如，孔令义等[32]曾利用 2D-NMR 对凯林内酯酰化物中 C-3′和 C-4′的相对构型进行研究，确切地归属了 C-2′上两个角甲基的 δ_c 值，修正了以前文献报道的数据，从而据此可推定 C-3′和 C-4′的相对构型。由于顺式凯林内酯双酰化物具有拮抗钙离子活性，而反式无效，故确定 C-3′和 C-4′的相对构型在理论研究和寻找抗心血管疾病新药上均具有现实意义。

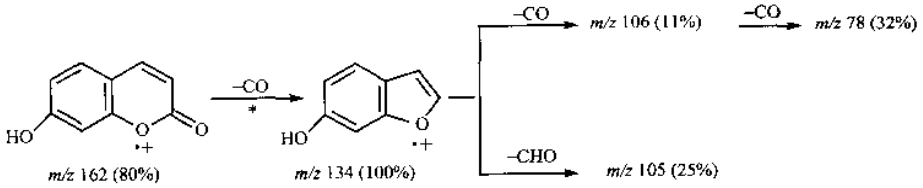
四、质　　谱

1. 简单香豆素

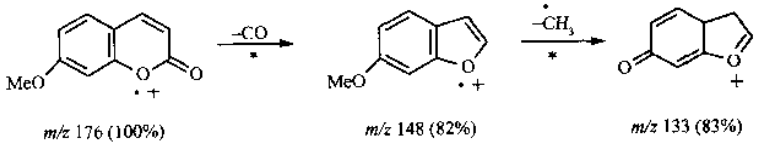
1）香豆素母核经 EI-MS 可得一强分子离子峰，随后失去 CO 成为苯骈呋喃离子的基峰，因此吡喃酮环失羰基已成为大多香豆素的质谱特征。



2）7-羟基香豆素的裂解方式基本上与香豆素母核类似，仅多了一个失 CO 的碎片。

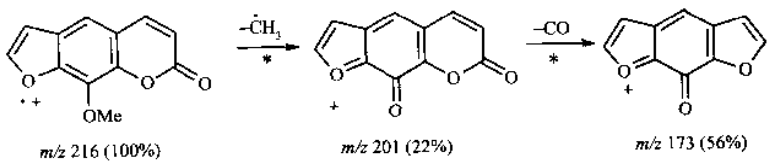


7-甲氧基香豆素则以分子离子峰为基峰，失 CO 的离子仍以强峰存在，但接着失去 CH_3 游离基形成共轭的氧鎓离子(oxonium ion，m/z 133)可因醌式结构而稳定化。

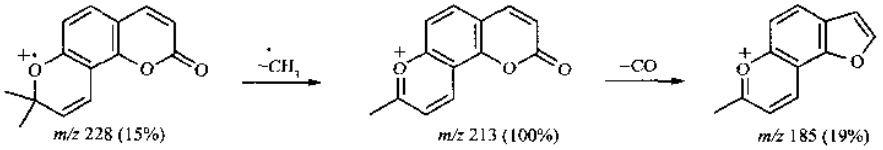


2. 呋喃香豆素和吡喃香豆素

1）呋喃香豆素中呋喃环的存在不会改变简单香豆素的基本裂解过程，即仍然易从吡喃酮中失去 CO，但对甲氧基呋喃香豆素例如花椒毒内酯则首先是失去一个甲基游离基形成一个共轭的氧鎓离子，随后再失 CO。

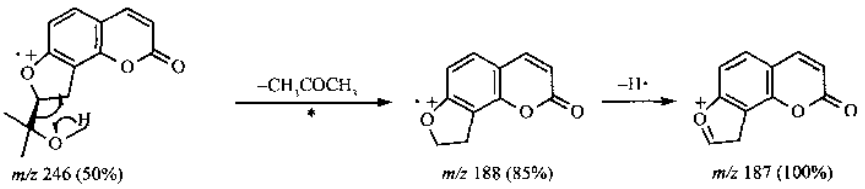


2）在吡喃香豆素如邪蒿内酯质谱中，则主要是失去吡喃环上的一个甲基游离基，形成一个稳定的苯骈吡喃鎓离子(benzopyrylium ion)，并通常成为基峰。

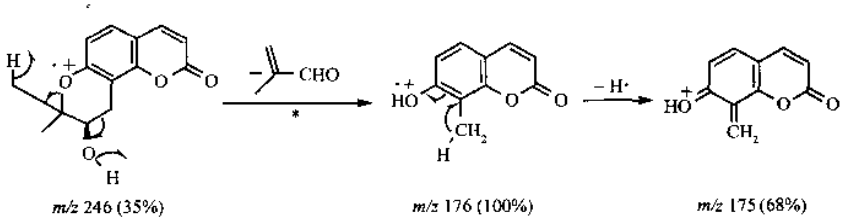


3. 二氢呋喃香豆素和二氢吡喃香豆素

1) 二氢呋喃香豆素以 columbianetin 为例。分子离子首先通过一个氢原子的重排失去二氢呋喃环上的羟基化侧链即丙酮分子而得碎片离子 m/z 188，然后再失去一个氢原子成为高度稳定的 m/z 187 的基峰离子。开裂所得的 m/z 为 59 的丙酮质子化离子也可作为此类香豆素的特征。



2) 二氢吡喃香豆素以 lomatin 为例。二氢吡喃环的开裂可首先失去两个甲基和环上两个碳原子并转移两个氢原子后，得到 m/z 176 的基峰离子，然后再失一个氢原子而成稳定的 m/z 175 离子，此离子也可从分子离子直接形成。



第六节　研究实例

一、云南羌活中新的补骨脂内酯单糖苷[31]

云南羌活为伞形科植物心叶棱子芹[*Pleurospermum rivulorum* (Diels)]的干燥根，主产于云南丽江、鹤庆等地并在该省部分地区以商品羌活入药。从中分离得到 4 个苷类成分，其中新化合物 **IV** 的分离和鉴定如下：

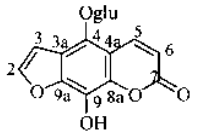
(1) 提取分离

生药 10kg 粗粉，以 95% EtOH 室温渗漉，提取物经石油醚脱脂和 EtOAc 萃取后，再用水饱和的正丁醇萃取，得提取物 260g，经反复硅胶及十八碳硅胶柱色谱，依次分离，从中得到化合物 **IV**。

(2) 结构鉴定(编号参见结构)

IV 为浅黄色粉末状结晶，熔点 290℃(dec.)，紫外光下显黄色斑点，IR KBr(cm^{-1})：3405(羟基)、1700(C—O)、1634、1598(芳环)、1148、1130、1095、1061、1045(苷类 C—O)。EI-MS m/z：218(苷元)，HRFABMS m/z：$[M+H]^+$ 381.0839($C_{17}H_{17}O_{10}$，计算值 381.0822)。^{1}H-NMR(DMSO-d_6) δ：8.50(1H, d, J=9.8Hz, H-5)、6.35 (1H d, J=9.8Hz, H-6)、8.01 (1H, d, J=2.3Hz, H-2)、7.32(1H, d, J=2.3Hz, H-3)

显示4,9位二取代线型呋喃香豆素特征,在δ 10.29(1H,s)有一酚羟基峰,在δ 4.70(1H,d,J=7.8Hz, g_1-H)有β-D-糖苷1位异头质子信号,同时在氢谱中出现一系列糖碳上的质子和羟基峰。在^{13}C-NMR(DMSO-d_6)中的δ 105.0(d, g_1-C)、77.1(d, g_5-C)、76.2(d, g_3-C)、73.7(d, g_2-C)、69.6(d, g_4-C)、60.8(t, g_6-C)进一步表明为β-D-吡喃葡萄糖苷,从而推定该化合物为补骨脂内酯的4,9-二羟基化合物的单糖苷。由于其NOESY及ROESY谱显示糖苷的1位质子(δ 4.70)与呋喃环的β位H-3质子(δ 7.32)间存在NOE,在HMBC谱中,此g_1-H与C-4相关,故推定葡萄糖是与4位羟基成苷,确定其结构为9-hydroxy-4-*O*-β-D-glucopyranosylpsoralen。所有NMR信号由^{1}H-^{1}H COSY,^{1}H-^{13}C COSY及HMBC指定,HMBC数据列于表15-8所示。



化合物Ⅳ
(结构编号按原文献)

表15-8 化合物Ⅳ的HMBC数据

H(δ)	相关C(δ)
6(6.35)	7(159.8), 4a(108.8)
5(8.50)	7(159.8), 4a(108.8), 4(138.5)
3(7.32)	4(138.5), 3a(117.3), 9a(146.2)
g_1(4.70)	4(138.5)
OH(10.29)	9a(146.2), 9(126.6), 8a(139.1)

二、瑞香狼毒的新双香豆素[16]

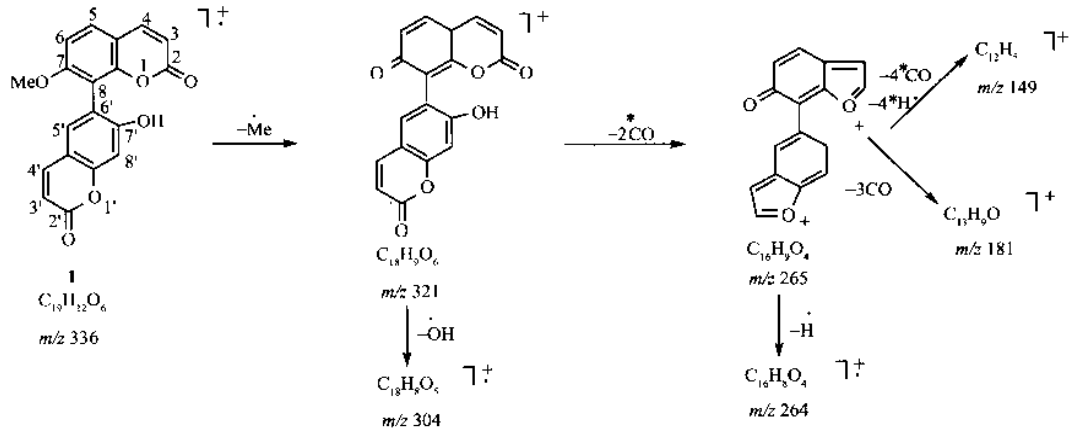
瑞香科(Thymelaeaceae)植物瑞香狼毒(*Stellera chamaejasme* L.)其根用做中药,临床多用以治疥癣、顽固性皮肤溃疡,恶性肿瘤,慢性支气管炎和结核病等。从其根的乙醇浸膏的石油醚和乙醚部位中分离得到13个化合物,包括多种香豆素,其中一个新的双香豆素(1),定名为Bicoumastechamin的分离和结构鉴定如下:

(1) 提取分离

植物的干燥根(20kg)粉碎后,用95% EtOH提取,部分提取液经浓缩后,相继用石油醚和乙醚进行分配萃取,得石油醚提取物(830g)和乙醚提取物(1750g)。乙醚提取物经硅胶柱反复色谱,用己烷和丙酮混合物进行极性递增梯度洗脱,收集己烷-丙酮(1:2)流分,蒸去溶剂后的水不溶部位进一步以RP-8柱色谱分离,40% EtOH洗脱,得**1** (9 mg)。

(2) 结构鉴定

1为黄色正方形结晶,熔点264~265℃,分子式为$C_{19}H_{12}O_6$(HRMS, m/z:[M]$^+$ 336.0612),^{13}C-NMR(DMSO-d_6)显示19个碳信号。IR ν_{max}^{KBr}:3420(OH),1725(C=O),1600,1500。UV λ_{max}^{MeOH}nm(lgε):212(4.44),257,325(4.37)提示为7-氧代香豆素的特征。^{1}H-NMR(DMSO-d_6)显示1个OMe(δ 3.79),8个芳H(δ 6.24~8.05)和1个OH(δ 10.62)信号。有两对典型的H-3和H-4信号,一对为δ 6.26(1H, d, J=9.5Hz, H-3)和8.04(1H, d, J=9.5Hz, H-4),另一对为δ 6.24(1H,d, J=9.7Hz, H-3′)和7.93(1H,d, J=9.7Hz, H-4′),表明分子由两个C-3和C-4未被取代的香豆素部分组成,符合从分子式算得的不饱和数14。此外,两个相关的质子:δ 7.75(1H, d, J=8.7Hz, H-5)和7.18(1H, d, J=8.8Hz, H-6),两个单峰信号:δ 6.89(1H, s, H-8′)和7.46(1H, s, H-5′),连同两部分香豆素的联结位置均可由NOESY实验决定。在NOESY谱中,可见H-4′(δ 7.93)和H-5′(δ 7.46)、H-8′(δ 6.89)和OH(δ 10.62)、H-4 (δ 8.04)和H-5(δ 7.75)以及H-6(δ 7.18)和7-OMe(δ 3.79)这几对信号之间的NOE效应。据此,表明两个香豆素部分是经C-8与C-6′相连。**1**的结构可由EI-MS裂解碎片进一步加以确证。



第七节　化学合成

合成香豆素的关键步骤是形成吡喃酮环。方法上可以先制备好所需取代基的酚再构成吡喃酮环，也可以先制成香豆素母核，然后进一步修饰。

一、简单香豆素的合成

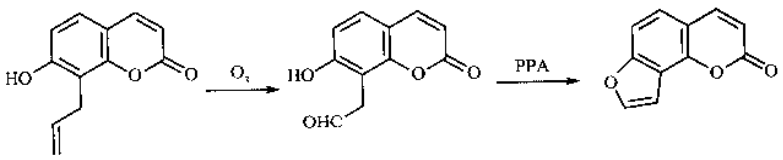
吡喃酮环的经典合成反应主要有 Perkin 反应和 Pechmann 缩合反应。Perkin 反应由邻羟基苯甲醛与乙酐和乙酸钠在 180℃下加热，可生成吡喃酮环而得香豆素母核。此法的缺点是得率往往很低。Pechmann 反应则避免采用邻羟基苯甲醛为原料，如 7-羟基香豆素可由间苯二酚与苹果酸经硫酸在 120℃加热而得。此法缺点是不少酚类不起这一反应，呋喃香豆素类也不能用此法制取，因呋喃环对酸过于敏感。

近年来，已报道了不少改进简单香豆素的合成方法来提高生产率，如 Ishii 等[33]将 4-甲氧基水杨醛与 $H_3P^+—CH_2—CO—OC_2H_5$(carbethoxymethylenephosphorane)在氩气下于二乙基苯胺中回流加热 15 min，即可得产率高达 95.2%的 7-甲氧基香豆素。如用水杨醛为原料，同样反应回流 4h，所得香豆素的 89.2%产率也大大超过上述 Perkin 法 43.3%的产率。

Pakinkar 等[34]则报道一些天然香豆素的一步合成法，此方法的机理是将一个所需结构的酚类在多磷酸(polyphosphoric acid，PPA)溶液中使其邻、对位碳连到对甲氧基桂皮酸侧链的双键碳上，环化形成香豆素的内酯骨架后，再脱去原来酸中的甲氧基苯。

二、呋喃香豆素类的合成

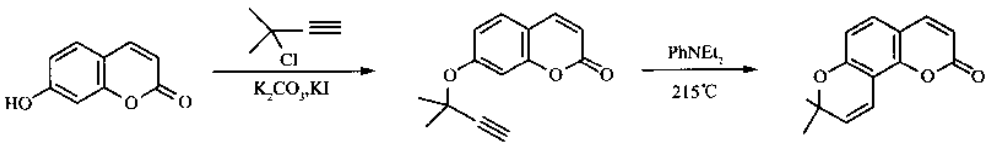
呋喃香豆素的合成方法很多，常用的是以 7-羟基香豆素或其衍生物按生源途径进行侧链环化，如 7-羟基-8-烯丙基香豆素经臭氧化成邻羟基苯乙醛结构(85%)，再在多磷酸(PPA)中经 100℃加热 10 min，即可定量地得到白芷内酯。



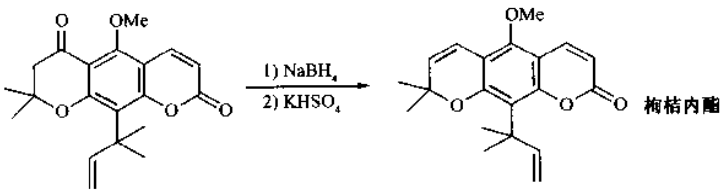
补骨脂内酯可相似地从 7-羟基-6-烯丙基香豆素为原料按上法合成。有关补骨脂内酯及其类似物的各种合成法已有 E. Bisagni 进行了综述[35]。

三、吡喃香豆素类的合成

邪蒿内酯的合成，可将 7-羟基香豆素先与 2-氯-2-甲基丁-3-炔形成 1,1-二甲基炔丙基醚结构(88%)，然后在 *N*,*N*-二乙基苯胺中回流经重排得到邪蒿内酯(85%)。



线型吡喃香豆素如枸桔内酯的合成可由含有苯二氢吡喃-4-酮(chromanone)结构的香豆素经硼氢化钠还原，所得的醇再在新鲜熔融的硫酸氢钾中经升华脱水而成。



四、其他香豆素的合成

近年来，不少具有生理活性的天然香豆素被人工合成，如具有抗 HIV 活性的 calanolide A 的合成研究已有不少报道，包括(±)-calanolide A 的全合成[36]及其光学活性物的合成[37]。我国学者林国强等则首次合成光学活性的双香豆素(+)和(−)-isokotanin A[38]，徐嵩等基于香豆素类化合物能抑制某些癌细胞，采用药物并合原理，设计以香豆素为母体，合成一系列取代于 C-6 或 C-7 的具有第三代维甲结构(二苯乙烯结构)的新香豆素[39]。又如最近报道合成了一系列新的 3-溴-4-甲基-7-甲氧基-8-氨基香豆素的衍生物，用于体外抗肿瘤活性的筛选[40]等。

第八节 生理活性

香豆素不仅类别多，而且具有多方面的生理活性，不少具有药理作用，但有的却具有毒性。

一、抗菌作用

不少香豆素具有抗菌活性，如七叶内酯及其苷、来自链霉菌代谢物的新生霉素(novobiocin)、具有抗菌活性的色原酮香豆素 frutinone A，以及最近从蕨类植物 *Cyclosorus interruptus* 中分离得到的含亚乙二氧基(ethylenedioxy)的新香豆素 interruptin G[41]等。

二、肝脏毒性

黄曲霉素具有对肝脏的高毒性，其中黄曲霉素 B_1 和 G_1 为主要成分，但以 AfB_1 毒性最高。必要的结构是呋喃环上的双键和不饱和内酯环。这种毒性随双键饱和而降低，高温加热可因内酯环开裂而使毒性大部分被破坏。

三、光敏作用

光敏作用主要来自呋喃香豆素，光敏所致生物过程包括致突变、病毒和微生物的灭活、皮肤红斑、致肿瘤和酶的失活等。在一定剂量下，呋喃香豆素可用于治疗某些皮肤病如牛皮癣和蕈样霉菌病。利用盐水虾(brine shrimp)曾筛选了数种已知香豆素的光毒性作用[42]，如几种常见的线型呋喃香豆素的光毒活性次序为：补骨脂内酯＞香柑内酯＞花椒毒内酯。

四、抗凝血作用

双香豆素(dicoumarol)的抗凝血作用早在20世纪初叶就已发现，现已知其活性必需结构是一个完整的4-羟基香豆素带有C-3取代的碳链。3-和4-苯基香豆素一般也具有弱的抗凝活性，其中以海棠果内酯活性最显著。

五、扩冠作用

具有血管扩张作用的凯林内酯酰化物的共同特点是C-3′和C-4′为顺式构型，这可能是其扩冠的活性必需结构。近年进一步证实从白花前胡根中分得的白花前胡丙素(praeruptorin C)可以降低心脏对氧的需求，这可能就是前胡在临床上能抗心绞痛的一个作用机制[43]。

六、抗HIV作用

(+)-calanolide A是胡桐内酯类中抗HIV-1活性最强者，由于它只选择性地抑制HIV-1-RT，这一特点使之可能成为新的具有潜在药用作用的一类非核苷的HIV-RT抑制剂，构效关系研究表明C-10和C-11的两个甲基处于*trans*及12β-OH是活性的重要基础[44]。

七、*i*-NOS抑制活性

对诱导型NO合成酶(*i*-NOS)的抑制是近年发现某些香豆素的新活性，现已知东莨菪内酯能剂量依赖地抑制*i*-NOS mRNA和*i*-NOS蛋白质的表达[45]。从苦枥白蜡树(*Fraxinus rhynchophylla* Hance)根中也找到东莨菪内酯作为抑制NO合成的活性成分[46]。对*Angelica*属植物中的17种呋喃香豆素抑制NO合成的药理筛选，发现角型具活性的一般多于线型，6-OMe的存在似乎是增强活性所必需[47]。

八、雌激素样活性

从高等植物中寻找非甾体的植物雌激素近年已取得不少进展。最近报道从黄连木中分得的4-芳基二氢香豆素3-3″二聚体是第一个双香豆素被证明具有雌激素样活性。体外试验表明该双香豆素对雌激素受体的结合能竞争性对抗[^{3}H]雌二醇，并证明具有雌激素激动剂的活性，可见双-4-芳基香豆素有可能成为一种新类型的植物雌激素[17]。

参考文献

[1] Robert D H et al. The Natural Coumarins, Occurence, Chemistry and Biochemistry. New York: John Wiley & Sons LTD, 1982: 13, 21, 55, 131
[2] Murray R D H. Nat Prod Rep, 1989, 6: 591
[3] Murray R D H. Nat Prod Rep, 1995, 12: 477
[4] Ana Estevez-Braun et al. Nat Prod Rep, 1997, 14: 465
[5] Alexander I Gray et al. J Nat Prod, 1992, 55(5): 681

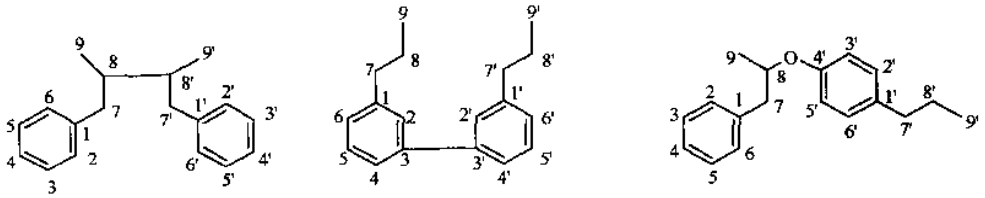
[6] Satyajit D Sarker et al. Phytochemistry,1994,37(5):1287
[7] 孔令义等. 天然产物研究与开发,1994,6(1):50
[8] 孔令义等. 药学学报,1993,28(6):432
[9] 孔令义等. 药学学报,1993,28(10):772
[10] 孔令义等. 药学学报,1994,29(1):49
[11] 黄平等. 药学学报,1997,32(1):62
[12] 张金生等. 药学学报,2001,36(1):34
[13] Kojima K et al. Chem Pharm Bull,2000,48(3):353
[14] Tawnya C Mckee et al. J Nat Prod,1996,59:754
[15] Tawnya C Mckee et al. J Nat Prod,1998,61:1252
[16] Xu Z H et al. J Asia Nat Prod Res,2001,(3):335
[17] Nishimura S et al. Chem Pharm Bull,2000,48(4):505
[18] Cai J N et al. J Nat Prod,2000,63:485
[19] 姚新生. 天然药物化学. 第二版. 北京:人民卫生出版社,1994:117
[20] Takadate A et al. Chem Pharm Bull,2000,48(2):256
[21] Bourgaud F et al. Phytochemical Analysis,1994,5:127
[22] Tegtmeier M et al. Pharmazie,2000,55(2):94
[23] 季小慎等. 波谱学杂志,1997,14(2):185
[24] 裴运淮等. 天然有机化合物的^{13}C核磁共振谱的研究. 昆明:云南科技出版社,1986:189
[25] Mikhova B et al. Stud Nat Prod Chem,1996,18:971
[26] Macias F A et al. Magn Reson Chem,1989,27:705
[27] Macias F A et al. Magn Reson Chem,1990,28:732
[28] 孙汉董等. 药学学报,1982,17(11):835
[29] 孔令义等. 波谱学杂志,1994,11(3):245
[30] 陶朝阳等. 药学学报,2001,36(7):511
[31] 肖永庆等. 药学学报,2001,36(7):519
[32] 孔令义等. 波谱学杂志,1993,10(4):433
[33] Ishii H et al. Chem Pharm Bull,1991,39(11):3100
[34] Paknikar S K et al. J Indian Inst Sci,1994,74:277
[35] Bisagni E. J Photochem Photobiol,B:Biol,1992,14:23
[36] Kucherenko A et al. Tetrahetron Lett,1995,36(31):5473
[37] Prashant P et al. J Org Chem,1995,60:2964
[38] Lin G Q et al. Tetrahedron Lett,1996,37(17):3015
[39] 徐嵩等. 药学学报,2000,35(2):103
[40] Nofal Z M et al. Molecules,2000,5:99
[41] Quadri-Spinelli T et al. Planta Med,2000,66:728
[42] Ojala T et al. Planta Med,1999,65:715
[43] 王洪新等. 药学学报,1995,30(11):812
[44] Matthee G et al. Planta Med,1999,65:493
[45] Kang T H et al. Planta Med,1999,65:400
[46] Kim N Y et al. Planta Med,1999,65:656
[47] Wang C C et al. Bioorg Med Chem,2000,8:2701

(陈泽乃)

第十六章　木脂体类化合物[1,2]

第一节　概　　述

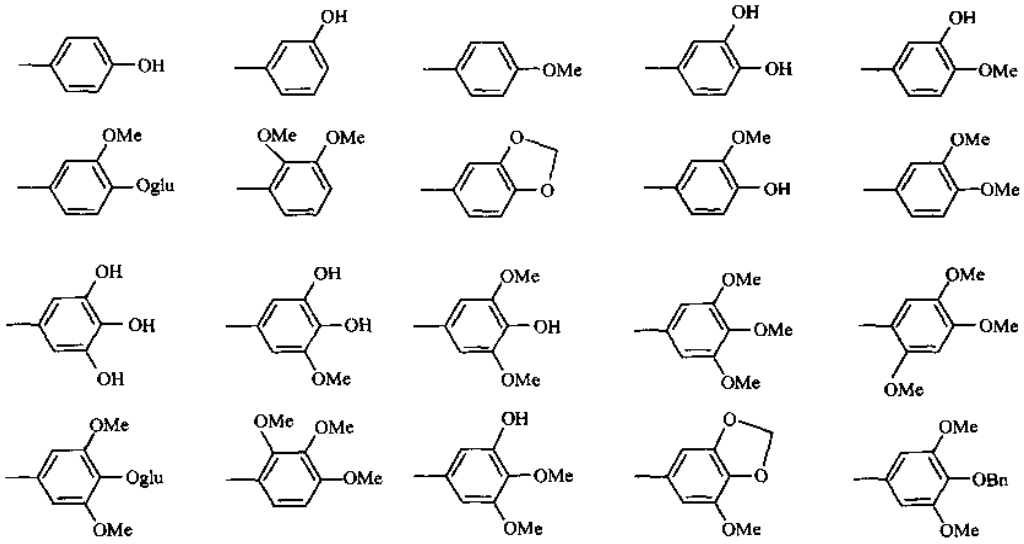
木脂体类(lignan)是一类由苯丙素氧化聚合而成的天然产物，通常所指的是二聚体，少数为三聚体和四聚体等。1961 年，Freudenberg 等把苯丙素 C_6—C_3 单元编号为 1～9，第二个 C_6—C_3 单元编号为 1′～9′。最早木脂体素是指 8—8′连接的二聚体[3](**I**)。后来发现，许多木脂体类并非 8—8′相连，Gottieb 把 8—8′以外连接的木脂体类称为新木脂体类(neolignan, **II**)[4]，后来又把两个 C_6—C_3 单元之间以氧原子连接的化合物称为氧木脂体类(oxyneolignan, **III**)。



I　　**II**　　**III**

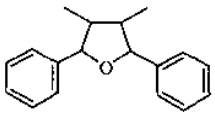
木脂体类的苯丙素组成单元也可分成多种类型，主要包括肉桂醇(cinnamyl alcohol)、肉桂酸(cinnamic acid)、丙烯基酚(propenyl phenol)、烯丙基酚(allyl phenol)等。木脂体类两个苯环上常有氧取代基，并以 C_4、C_3、C_4 或 C_3、C_4、C_5 取代较多。侧链上含氧官能团也多有变化，尤其是侧链末端碳(又称 r 或 9 位)原子上的含氧官能团，如羟基、羰基、羧基等，这些含氧基团相互脱水缩合，又形成四氢呋喃、半缩醛、内酯等环状结构。这就使木脂体类的结构类型繁多。

苯环上的常见取代基团如下：

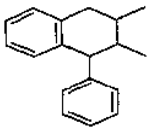


一、木脂体类化合物的命名

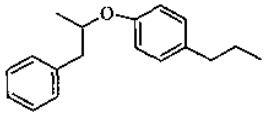
以往木脂体类化合物多数用俗名或以半系统命名，随着对木脂体研究兴趣的增长和化合物数目的大量增加，出现了不同文献有不同命名的情况，如以下三个骨架就有多种命名：



7,7′-epoxylignane
2,5-diaryltetrahydrofuran
7,7′-epoxylignane
7.0.7′,8,8′-lignan
2,5-charyl-3,4-dimethyltetrahydrofuran

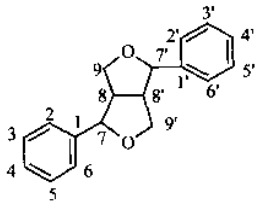


2,7′-cyclolignane
4-aryl-1,2,3,4-tetrahydronaphthalene
cyclolignane
8,8′,7,2′-lignan

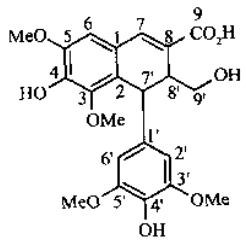


1-aryltetralin
8,4′-oxyneolignane
8,0,4′-lignan
(8-0-4′)-neolignan

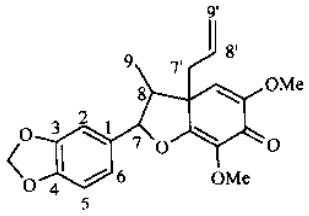
为了解决这个混乱情况，美国化学文摘(CA)应用自己的系统命名法希望补救这一问题，但有时却把问题弄得更为复杂。为此国际纯粹和应用化学会(IUPAC)在 1976 年和 1999 年提出天然产物命名建议后，于 2000 年再一次提出木脂体和新木脂体命名建议[5]。这一命名建议的基本内容是以 C_6—C_3 为单元，其中苯环部分与丙基相连的碳编号为 1，苯环编号为 1～6；丙基部分，以与苯环相连的碳编号为 7，依次为 7～9。第二个 C_6—C_3 单元的编号上加“′”。如果两个 C_6—C_3 单元是以 8—8′相连，则称其为木脂体；如果不是 8—8′相连，而是其他位置 C—C 相连，则称其为新木脂体。如果 C_6—C_3 单元之间不是以 C—C 链相连，而是以醚键相连者，则称为氧新木脂体。而化学结构中别的附加环，取代变化和立体异构，仍以标准的有机化学命名法。含氧基团的位置，双分子连接的桥头碳编号，均用最小可能数。下面举一些具体的命名实例[6]：



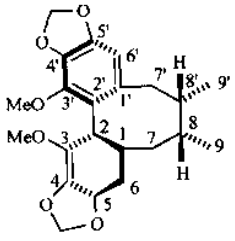
7,9′,7′,9-diepoxylignane



4,4′,9′-trihydroxy-3,3′,5,5′-tetramethoxy-2,7′-cyclolign-7-en-9-oic acid

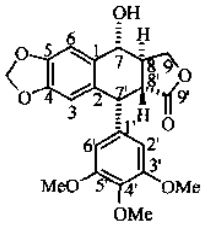


3′,5′-dimethoxy-3,4-methyl-enedioxy-2′,7-epoxy-4′H-8,1′-neolign-8′-en-4′-one



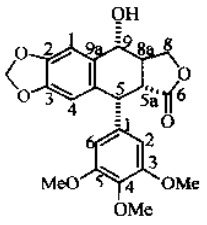
rac-(8 α,8′ α)-3,3′-dimethoxy-4,5:4′,5′-*bis*(methylene-dioxy)-2,2′-cyclolignane

在文献查阅时要注意 IUPAC 命名系统和 CA 命名系统的差别，并可以利用 CA 的 Index Guide 检索，如鬼臼毒素的化学命名如下：



(7α, 7′α, 8α, 8′β)-7-hydroxy-3′, 4′, 5′-trimethoxy-4, 5-methylene dioxy-2, 7′-cyclolignano-9′, 9-lactone

(IUPAC 系统命名)

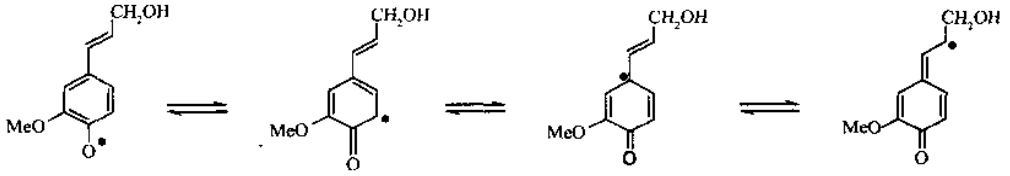


Furo[3′, 4′ = 6, 7]naphtho[2, 3-d]-1, 3-dioxol-6(5aH)-one, 5, 8, 8a, 9-tetrahydro-9-hydroxy-5-(3, 4, 5-trimethoxy-phenyl)-, (5*R*, 5a*R*, 8a*R*, 9*R*)-

(CA 系统命名)

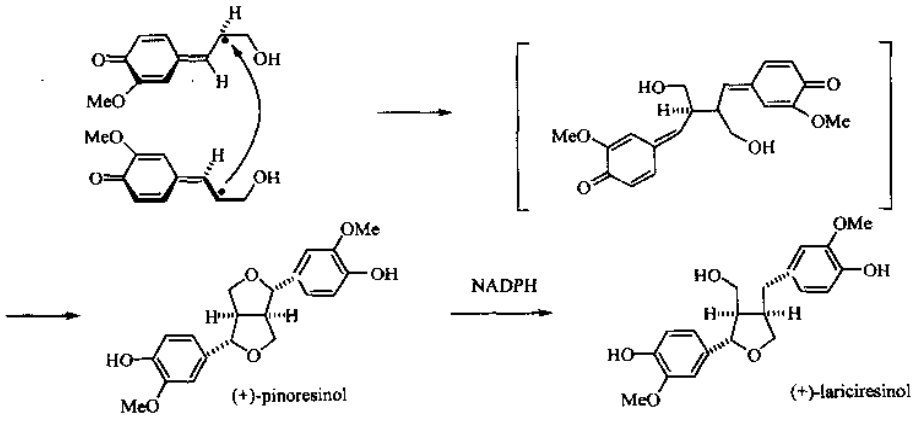
二、木脂体的生物合成

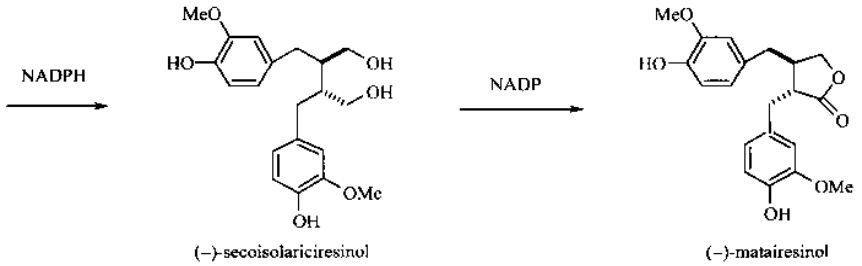
很久以前一些学者就推测木脂体和木质素可能是由松柏醇(coniferyl alcohol)经过氧化，游离基聚合而生成的，并用 *Forsythia suspensa* 中获得的去细胞酶制品证明可将阿魏酸(ferulic acid)还原为松柏醇，此酶的活化需要镁离子的参与，还原过程经过烯丙基边链的磷酸化。松柏醇会进一步在酚氧化酶的作用下形成酚游离基。根据共振式形成机制，可以形成多种游离基，游离基偶合后形成结构千变万化的木脂体和木质素。



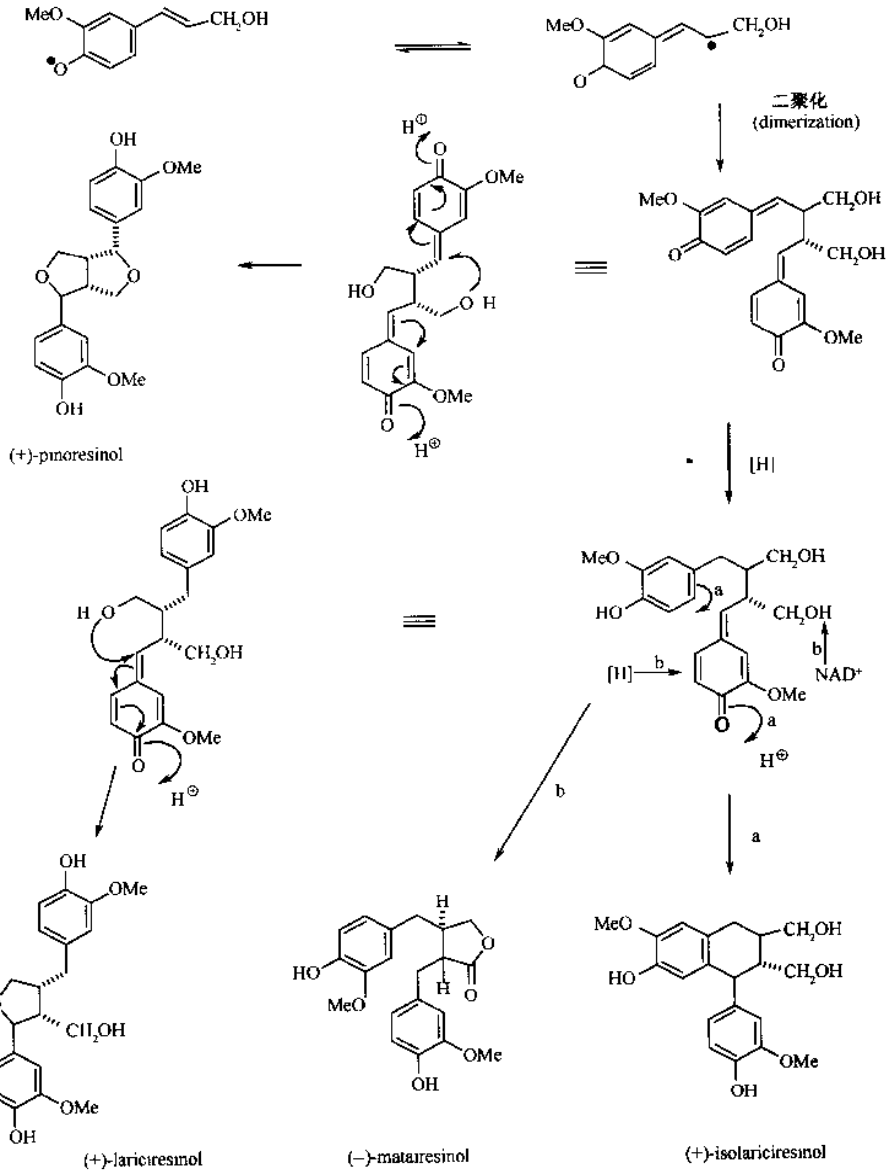
松柏醇游离基的共振结构

在 *Forsythia* 中已证实(+)-pinoresinol 是二分子松柏醇通过立体选择性的偶联而成的，氧化剂和氧化酶参与了这一过程。接着可以在还原酶的作用下，顺序选择性还原成(+)-lariciresinol，(−)-secoisolariciresinol。这个过程中的还原性辅酶 II(NADPH)也已被纯化，它们具有相同的动力学参数和相对分子质量。这个立体选择性过程中 pinoresinol 的 C-2，C-5 构型转化，可能涉及 S_N2 机制或通过一个醌式中间体的还原。最终通过选择性脱氢得(−)-matairesinol，而后者是形成其他类别木脂体的重要生物合成分支点，如鬼臼毒素(podophyllotoxin)系列的生物合成[7]。

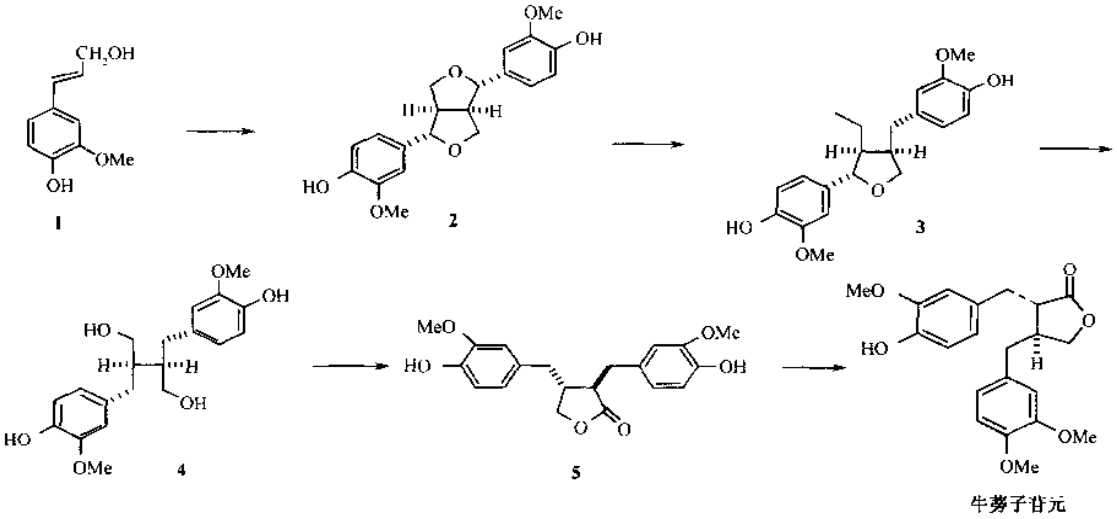




也可用如下的生物合成途径表达：



这是在椿叶花椒(*Zanthoxylum ailanthoides*)中研究(+)-lariciresinol 的生物合成[8]。而在牛蒡子苷元(arctigenin)的生物合成途径中(+)-lariciresinol **3** 作为中间体。



3 是咖啡醇(**1**)经过(+)-pinoresinol(**2**)中一个苄醚键开裂而形成的。从椿叶花椒无细胞提取物能够将 pinoresinol 转变成 lariciresinol,可以证明 NADPH 的存在。

三、木脂体的分离与鉴定

近 20 年来,木脂体类化合物的研究有了长足的进展,原因在于一些重要生物活性化合物的发现和对这类复杂结构的兴趣。许多新技术、新方法的应用更加快了这一领域的研究进展。

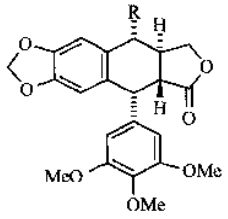
从化学结构类型来看,木脂体并不是一类物质,具有 10 多种母核结构,缺乏共同的特征反应。在提取分离过程中主要存在于脂溶性部分,多数可用硅胶色谱分离。如含酚羟基,则与酚性成分的分离方法类似。在薄层色谱上,可用 5%磷钼酸乙醇液、30%硫酸乙醇液等,喷洒后于 100℃加热数分钟,各类木脂体可显示不同的颜色,并可依此初步推断其结构类别。超临界提取已在木脂体的分离中得到有效的应用[9]。

木脂体的定性定量方法,主要采用正相或反相的 HPLC 方法,连接电喷雾质谱(ESI-MS)或快原子轰击质谱(FAB-MS)检出,可以提供一种快速的分析方法。如不经分离直接分析亚麻仁提取物中的 secoisolariciresinol 及其苷类[10],分析人血浆中的五味子素(schizandrin)含量[11]。

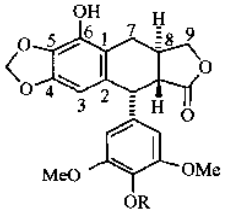
1. 紫外光谱

多数木脂体类化合物借助波谱方法就能确定其化学结构,包括其立体结构,其中紫外光谱主要测定苯环的存在状态。多数木脂素的两个取代芳环是两个孤立的发色团,其 UV 吸收峰位置相似,吸收强度是二者的总和。木脂体一般呈现酚衍生物的吸收,如二芳基丁烷类、苯并呋喃类等在 230 nm(lgε>4.0)、280 nm(lgε 3.5)附近有吸收峰。当边链上有双键并与苯环共轭,则呈现肉桂酸酯衍生物的吸收特征,在 235 nm、295 nm、335 nm 附近有峰,如二芳基丁内酯类。当边链连接成一个苯环,如芳基萘类,则呈现萘衍生物的吸收特征。在 220 nm、260 nm、295 nm、310 nm、350 nm 附近有多个吸收峰,鉴别比较容易,如为苯并呋喃环,则在 320 nm 附近有吸收峰。如为联苯环辛烯类,则呈现氧取代联苯的吸收特征,在 220 nm、250 nm、285 nm 附近有多个吸收峰,部分峰可以肩峰形式出现,其最大吸收在 220 nm 左右的位置与联苯的夹角有关。

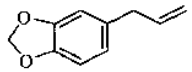
以下以鬼臼毒素衍生物为例,说明紫外光谱所反映的结构信息。天然的鬼臼毒素(**6**)、去氧鬼臼毒素(**7**)、鬼臼毒素苷(**8**),它们的紫外吸收 290~294 nm(ε 4400~4800)是结构中两个发色团[亚甲二氧基苯 283 nm(ε 3300)和三甲氧基苯 270 nm(ε 650)]的加和。峰位稍红移是由于苯环上的烷基取代,就像黄樟醚(safrole,**11**),λ_{max} 286 nm,比亚甲二氧基苯红移一些一样。α-盾叶鬼臼素(α-peltatin,**9**)和 β-盾叶鬼臼素(**10**)是鬼臼毒素 7-OH 移至 6 位,它们的紫外吸收比后者紫移一些。就像 myristicin(**12**)比黄樟醚紫移一样。



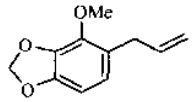
	R	λ_{max}(lgε)
6	OH	292(3.65)
7	H	293.5(3.68)
8	O-glc	291(3.62)



	R	λ_{max}(lgε)
9	H	274 (3.41)
10	Me	273(3.26)

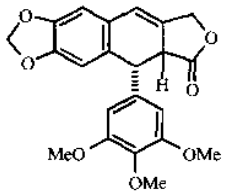


11



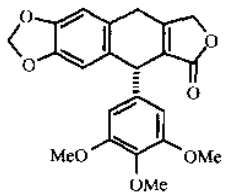
12

关于紫外光谱可以判别共轭系统的状态，也可以从下面实例加以说明，如 α-、β-、γ-失水苦鬼臼脂素(apopicropodophyllin)**13**、**14** 和 **15**，去氢鬼臼毒素(**16**)。其中 β-失水物的双键和两个苯环均不共轭，紫外吸收峰与鬼臼毒素相似。α-失水物由于共轭系统延长，吸收峰红移。γ-失水物使苯环与羰基共轭，吸收峰更红移。去氢鬼臼素芳香化成连苯基的萘环，吸收特征与萘衍生物相似。



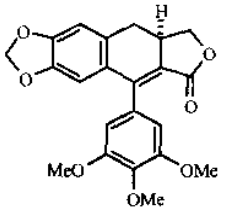
311nm(3.88)

13



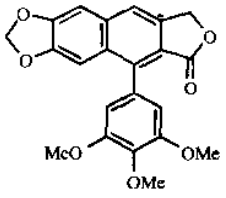
290nm(3.66)

14



350nm(4.10)

15



323nm(4.02)
356nm(3.72)

16

2．红外光谱

木脂体的红外光谱，除了多数在 1600～1500 cm^{-1} 显示芳环吸收之外，1760～1780 cm^{-1} 的孤立五元内酯，1740～1760 cm^{-1} 的共轭五元内酯，1725 cm^{-1} 五元不饱和内酯，1625 cm^{-1} 的边链双键，1670 cm^{-1} 的酮基，1640 cm^{-1} 的双烯酮吸收峰对判断结构均具有一定意义。

3．核磁共振谱

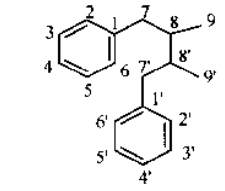
氢核磁共振谱、碳核磁共振谱及它们的二维谱技术是测定木脂体类化合物的主要依据，我们将在以下各

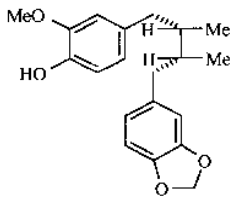
类化合物的实例中给予介绍。不少作者曾试图将各类木脂体的核磁共振谱进行归纳，但由于结构变化大，影响因素多，而使实际应用受到很大限制。相对来说，碳谱的归纳对各类木脂体的骨架和边链取代情况的判断可能更有一些参考价值[12]。

第二节　木脂体的结构类型及其性质

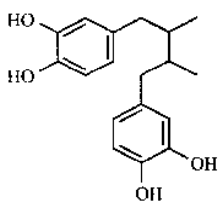
一、二芳基丁烷类

二芳基丁烷类(dibenzylbutane)是一类8—8′相连，最简单的木脂体类成分，其C_3部分可进一步氧化成醇基、羰基、羧基或脱水成烯基，所以本类型把二芳基丁烯、二芳基丁醇、二芳基丁酸也包括在内。例如，从陕西安康产华中五味子(*Schisandra sphenanthera*)中分离得到的(±)-安五脂素(**17**)[13]，从蒺藜科植物 *Larrea divaricata* 中得到的去甲二氢愈创木脂酸(nordihydro guaiaretic acid，**18**)为分子对称的内消旋化合物，可作为油脂和其他食品的抗氧剂。从欧洲紫杉(*Taxus baccata*)针叶中分离得到的 4-*O*-methyl-3′-*O*-demethyl-secoisolariciresinol (**19**)[14]，珠子草(*phyllanthus niruri*)中分离得到的叶下珠脂素(phyllanthin，**20**)[15]，红花五味子(*Schisandra rubiflora*)得到的化合物**21**[16]都为二芳基丁二醇类(dibenzylbutaned iol)，而从诃子属植物 *Terminalia bellirica* 的果皮中得到的 termilignan (**22**)在体外具有抗疟、抗真菌和抑制 HIV 的作用[17]，它是一种二芳基丁二烯类，从白鹤灵芝(*Rhinacanthus nasutus*)中分离得到的是一些二羧酸类化合物 rhinacanthins E (**23**)、F(**24**)[18a]。另外，还有一些氧化水平更高的二芳基丁烷类，如 jatrodien diacid (**25**)、rhinacanthin E (**26**)、phebalarin (**27**)、cinnamophilin (**28**)和 4′-*O*-methyl-*a*，*a*′-dioxo-austrobailign-an-b (**29**)[18b]。

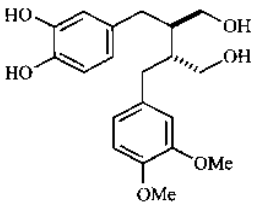




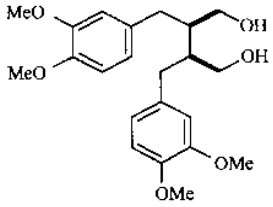
17



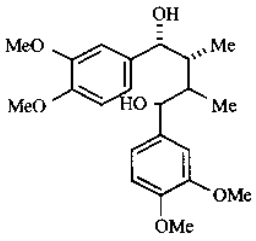
18



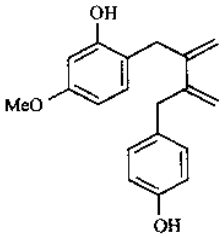
19



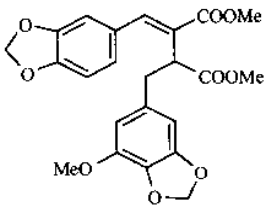
20



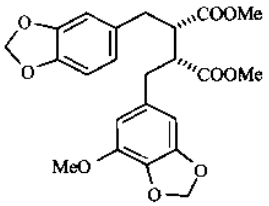
21



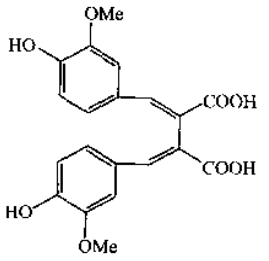
22

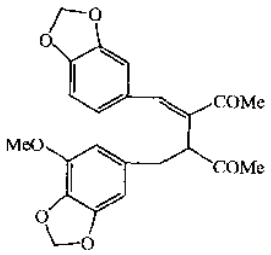


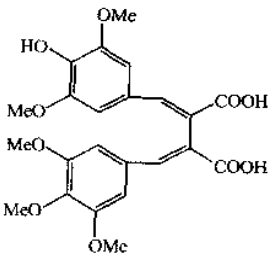
23

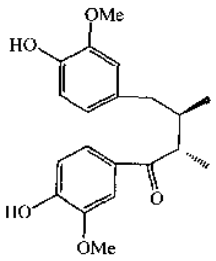


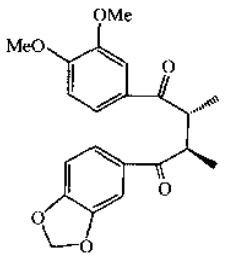
24


25

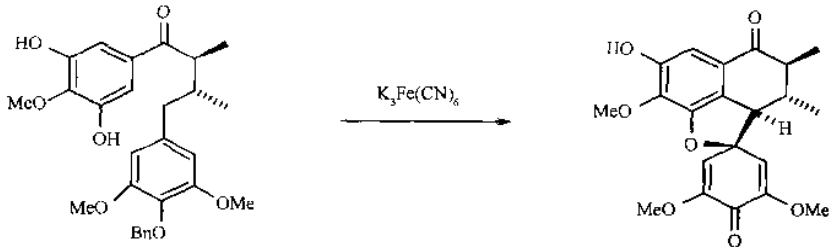

26


27


28

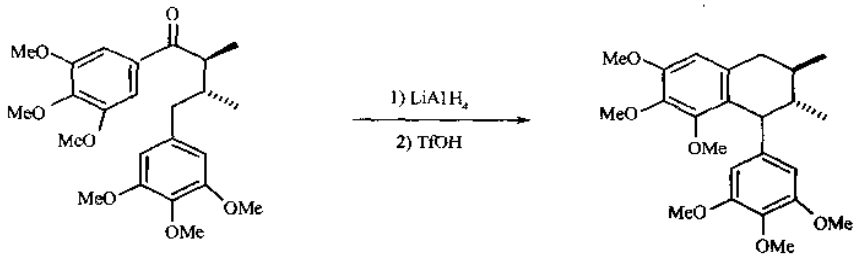

29

在生物合成过程中，二芳基丁烷类常是其他类型木脂体的生源前体。二芳基丁烷类也可以通过化学的方法转变成其他类型的木脂体类。例如，化合物**30** 应用氰化铁钾(potassium hexacyanoferrate)可得到一螺旋双烯酮化合物**31**。



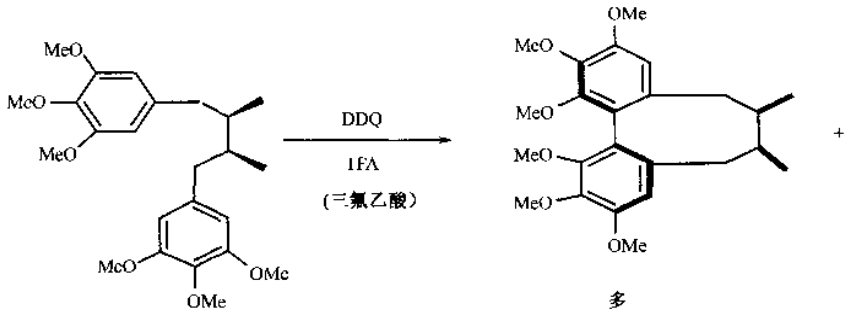
30 31

化合物 **32** 经酸催化氢化得 **33**。

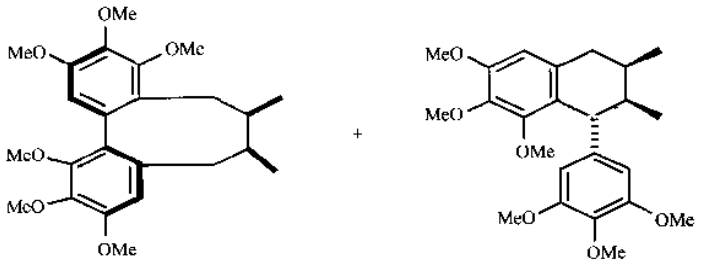


32 33

二芳基丁烷也可经多种试剂氧化偶联成四氢二苯基环辛烯衍生物，氧化剂包括 DDQ、Tl_2O_3(氧化铊)、RuO_2(氧化钌)等，溶剂可用 TFA、TFAA 或 BF_3[19]。如化合物**34** 经 DDQ 在 TFA 溶液中氧化生成 **35**、**36** 和 **37**。



34　　多　35

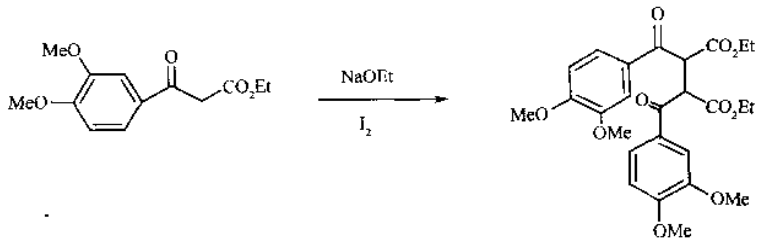


少　36　　37

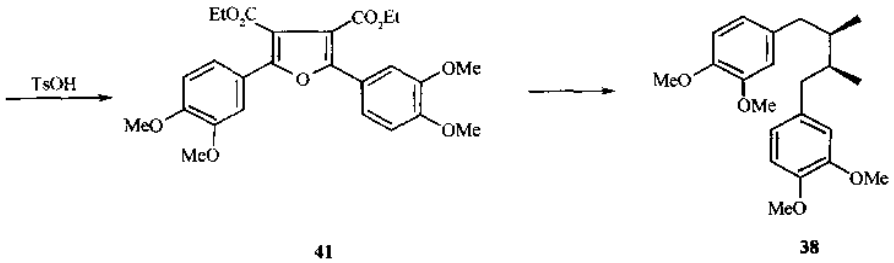
全合成实例如下：

[例 1]　meso-nordihydroguaiaretic acid (**38**)的合成[20]。

通过 β-酮酯(**39**)的氧化偶合成 **40**，经过环化脱水得呋喃化合物 **41**，然后还原后得产物 **38**。反应如下：



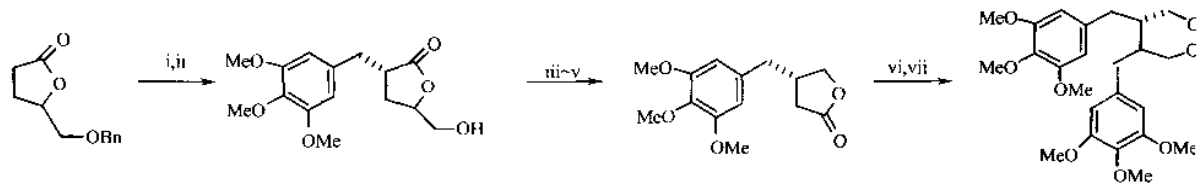
39　　40



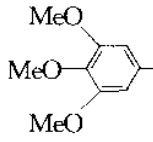
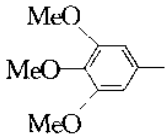
41　　38

[例 2]　Hazaleanin A 的合成[21]。

Hazaleanin A (**43**)是从花椒属 *Fagara rhetza* 树皮中分离得到的一种苷，其苷元部分已合成，从 L-glutamic acid 合成内酯**42**，然后经不对称合成得产物 **43**。反应如下：



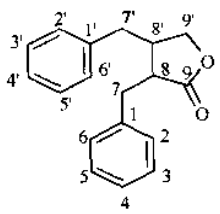
42 43

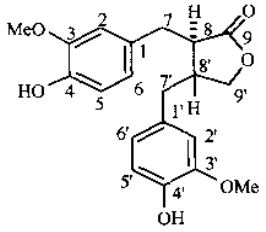
试剂：i. LDA，  ；ii. H_2, Pd-c; iii. $LiAlH_4$; iv. $NaIO_4$; v. CrO_3, Py; vi. LDA，  ；vii. $LiAlH_4$。

二、二芳基丁内酯类

二芳基丁内酯类(dibenzylbutyrolactone)成分又称木脂体内酯(lignanolide)，是木脂体 C-9 氧化成羧基与 C-9′羟基而成的 γ-内酯化合物，命名时将有羧基的 C_6—C_3 编号为 1～9，但实际文献中仍很混乱。

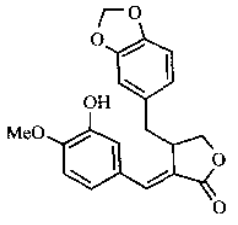
根据内酯环的不饱和程度又可有一些单去氢和双去氢的衍生物。罗汉松脂素(matairesinol，**44**)自罗汉松(*Podocarpus spicatus*)心材中获得，它的 4-*O*-葡萄糖衍生物为罗汉松脂苷(matairesinoside)，4′-O-葡萄糖衍生物则可从红花子中分离得到，而 4-甲醚为牛蒡子苷元(1-arctigenin)。4-甲醚、4′-*O*-葡萄糖衍生物则为牛蒡子苷(arctiin)。



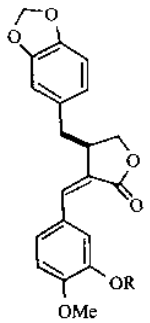


44

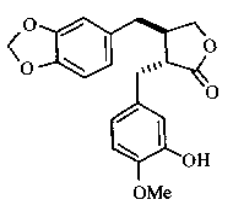
从柴胡属植物 *Bupleurum salicifolium* 的根中得到多种二芳基丁内酯类成分[22]：guamarol (**45**)、isokaerophyllin (**46**)、isoguamarol (**47**)、guamarolin (**48**)、chasnaroline (**49**)、methylchasnaroline (**50**)、benchequiol (**51**)。其中 **46** 和 **47** 在光照或酸处理时可相互转化。如氢化则主产物为顺式取代的 γ-内酯而非 **48** 这样的反式取代。从汶川柴胡(*B. wenchuanense*)和紫花络石(*Trachelospermum axillare*)中也得到二芳基丁内酯(wenchuasensin, **52**)[23]。从风毛菊(*Saussurea japonica*)得到 saussurenoside (**53**)[24]。



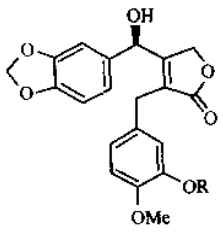
45



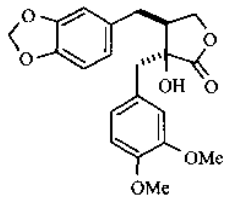
46 R=Me
47 R=H

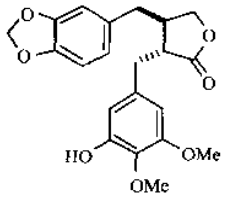


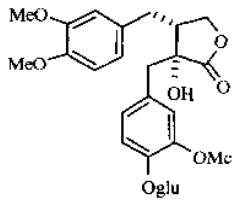
48



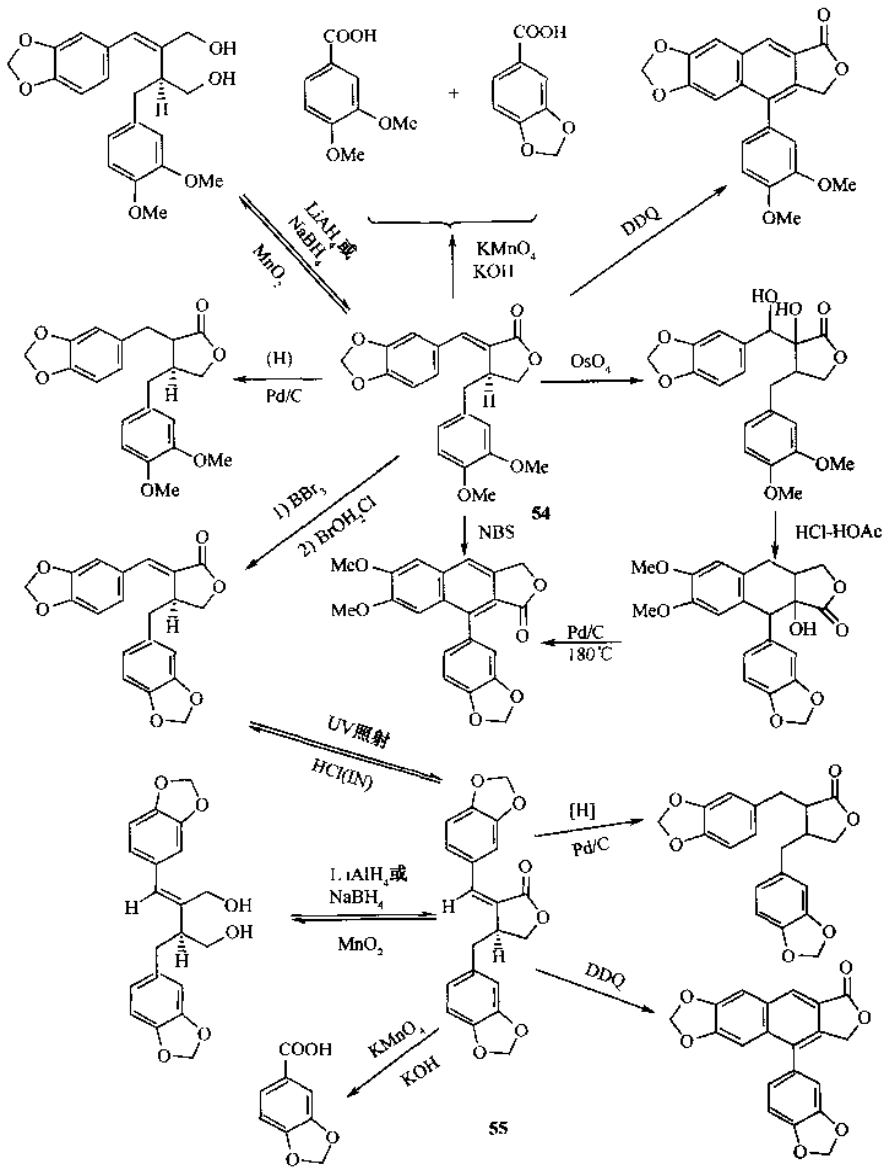
49 R=H
50 R=Me


51


52


53

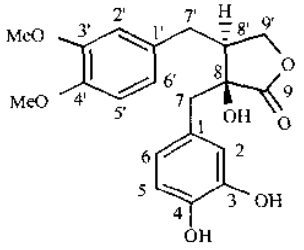
刘嘉森对 jatrophane (**54**)[25]和 gadain (**55**)结构研究中使用的化学反应进行了如下归纳：



1．研究实例：3,4,8-trihydroxy-3′,4′-dimethoxylignano-9,9′-lactone (56)

中美洲的荨麻科植物 *Phenax angustifolius*，民间作为杀虫药，叶子用 70% 乙醇冷浸，浸膏用正丁醇-水分配，正丁醇可溶部位用 Sephadex LH-20 分离，甲醇洗脱，然后 C_{18} Bondapack 反相硅胶制备柱，甲醇-水(4:6)洗脱得一油状物。$[\alpha]_D^{25}-39.1°$，EIMS 分子离子峰 374，从 600 MHz ^{1}H-NMR谱脂肪族区域可见 2 个亚甲基，一个接氧的亚甲基、2 个甲氧基，在芳香族区域有 6 个芳香质子，推测含 2 个芳环。^{13}C-NMR可见存

在一个内酯环(δ 180.6)和 12 个芳香碳原子。分析 2D-NMR 谱数据,归属^{1}H和^{13}C信号,用^{1}H-^{1}H-DQF-COSY 技术,证实 9′-H_2 与 8′-H、7′-H_2 之间偶合关系,并根据文献,推测 9′-H_2 为 2,3-反式 γ-丁内酯的亚甲基[26]。

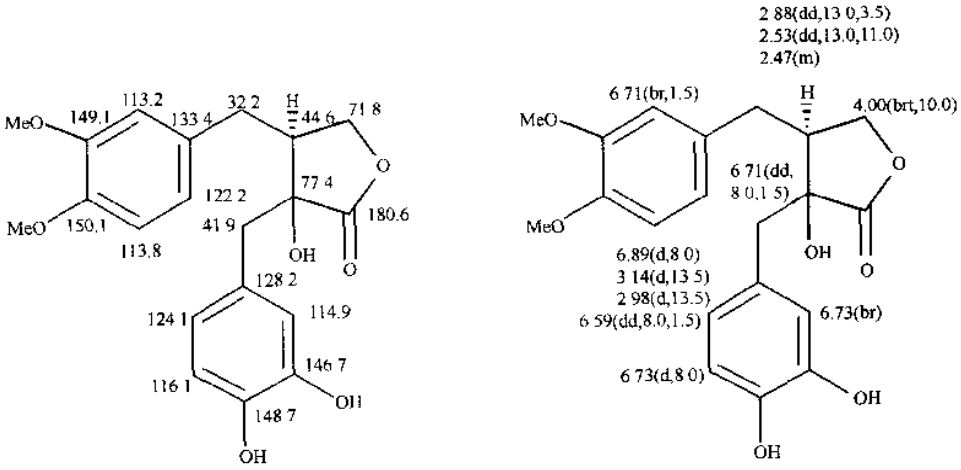


56

8′-C δ 77.4 与具有丁内酯反式连接的 benchequiol 一致而顺式连接的 guayadequiol(δ 75.9)不同。

HMBC 谱可见 9′-H_2(δ 4.00)与 7′-C(δ 32.2)、8′-C(δ 44.6)、8-C(δ 77.4)、9-C(δ 180.6)关联。7-H_2(δ 3.14、2.98)与 8′-C(δ 44.6)、8-C(δ 77.4)、9-C(δ 180.6)相关。

通过 HMQC 和 HMBC 谱归属了所有数据如下:



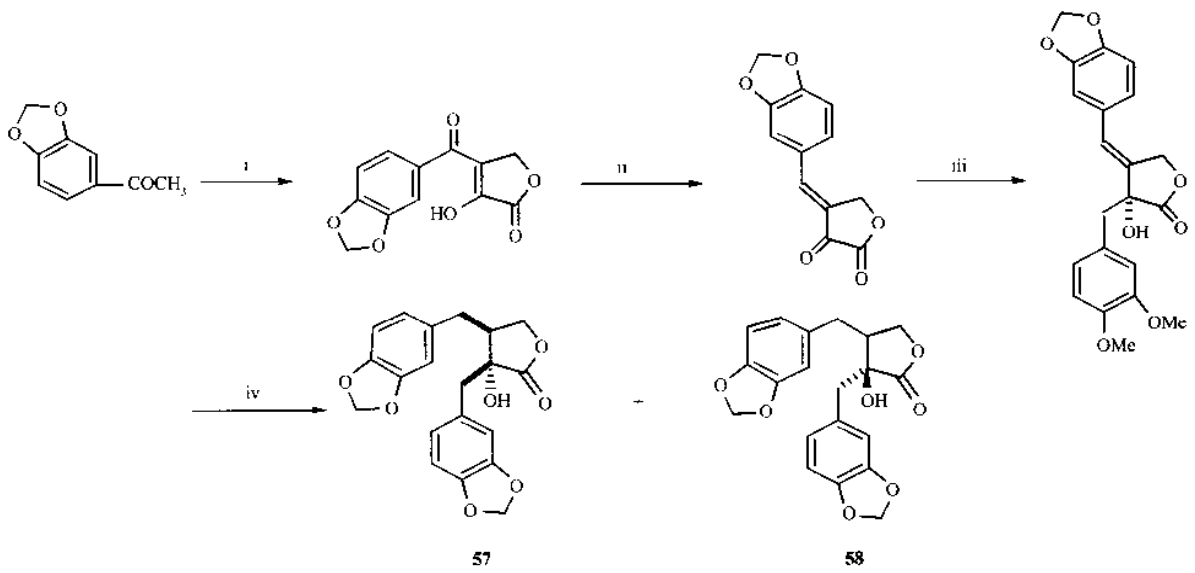
此化合物原文献命名为 2-hydroxy-2-(3′,4′-dihydroxyphenyl)methyl-3-(3″,4″-dimethoxyphenyl)methyl-r-butyrolactone[27]。这是从内酯环开始碳原子编号的命名方法。

2. 二芳基丁内酯类合成

由于二芳基丁内酯类是合成其他木脂体类的关键前体,所以有关这类化合物的化学合成研究较多。

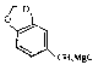
(1) meridinol (**57**)和 epimeridinol (**58**)的合成[28]

用未饱和的酮内酯开始,经与苄基格氏试剂的反应生成相应的共轭加成产物。氢化后得产物**57** 和 **58**。

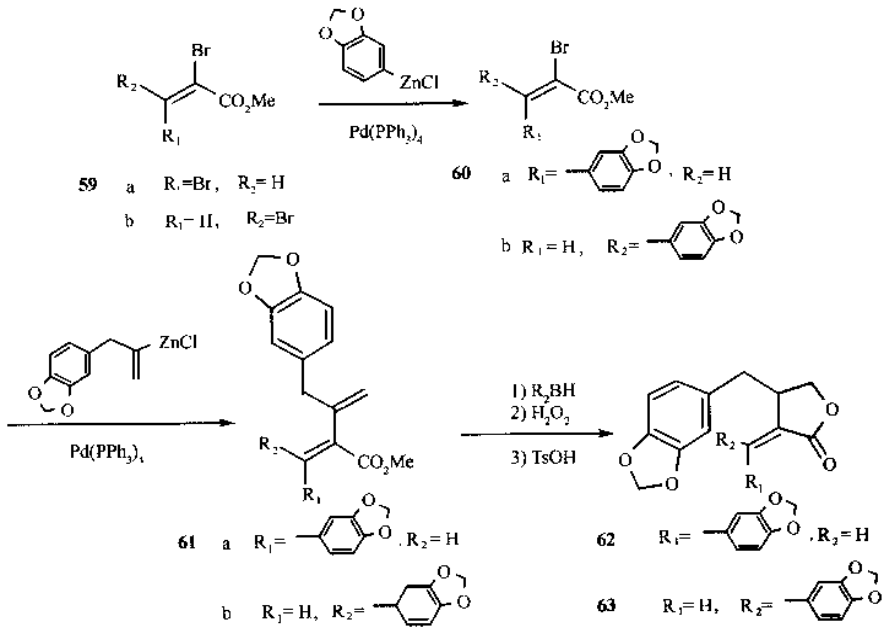


57　　58

3 : 1

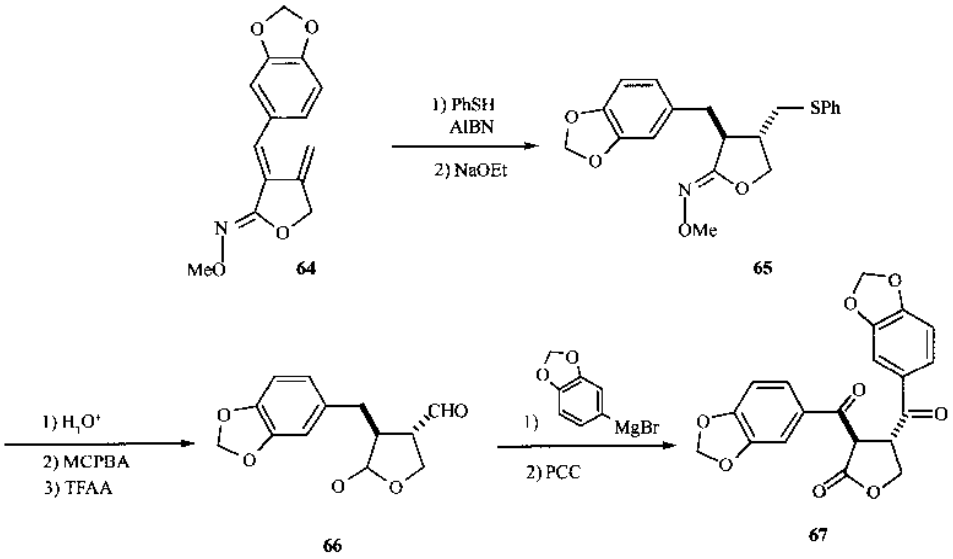
试剂：i. NaOMe，$(CO_2Et)_2$，CH_2O；ii. $NaBH_4$；iii.  ；iv. H_2，Pd-C。

(2) (±)-gadain (**62**)和(±)-savinin (**63**)的合成[29]



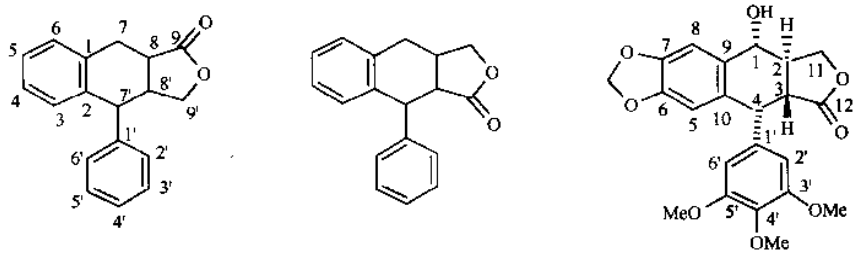
(3) (±)-oxoparabenzlactone (**67**)立体选择性合成[30]

化合物**64** 经过游离基加成和环合反应,再经过 Pummerer 反应将环状羟亚胺化合物 **65** 转变成醛 **66**,再经芳基格氏试剂加成和氧化最终获得双酮 **67**。



三、芳基萘类

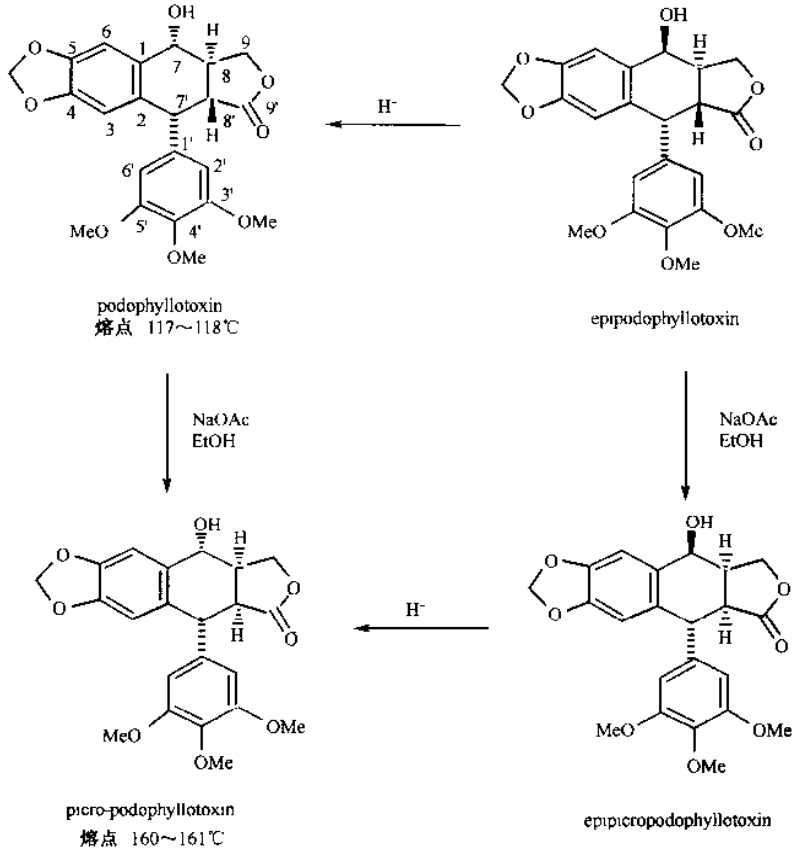
芳基萘类(arylnaphthalene)包括芳基萘、芳基二氢萘、芳基四氢萘,又称环木脂体内酯(cyclolignolide),原因是结构中除了 C-7,8,C-7′,8′构成一个萘环之外,C-9,C-9′常常构成一个 γ-内酯环。芳基萘类是木脂体中分布较广,化合物较多,研究也较多的一类。特别是属芳基四氢萘,具有抗肿瘤活性的鬼臼毒素(podophyllotoxin)及其衍生物,研究尤为深入。文献中常将内酯环羰基在上面的称为正式(normal),向下的称为反式(retro)。注意以往鬼臼毒素(**68**)碳原子的编码与本文不一样。



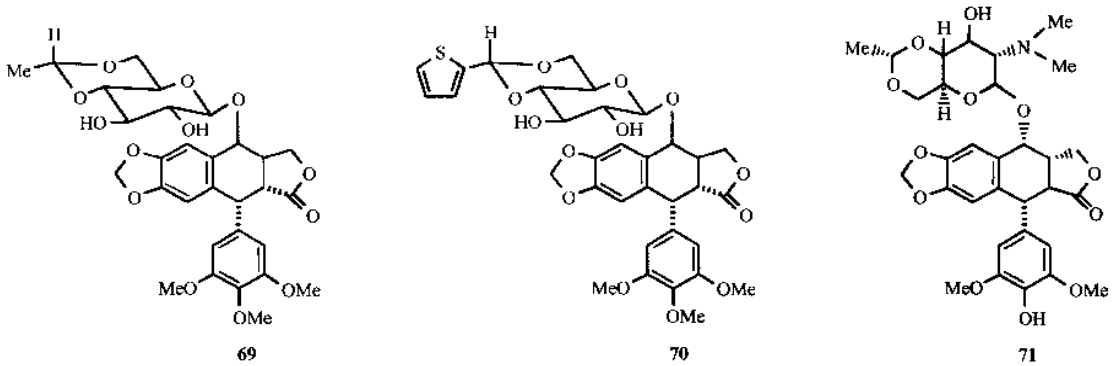
正式内酯环　　反式内酯环　　**68**

鬼臼属及其近缘植物含有多种具有芳基四氢萘类结构的木脂体成分。鬼臼毒素最早得自盾叶鬼臼(*Podophyllum peltatum*),后来又从八角莲(*P. pleianthum*)、桃儿七(*Sinopodophyllum emodi*)和山荷叶(*Diphylleia grayi*)等植物中分离得到。

鬼臼毒素遇碱后异构化为苦鬼臼毒素(picropodophyllotoxin),8,8′-反式转变成顺式。表鬼臼毒素(epipodophyllotoxin)遇酸后 7β-OH 变成 7α-OH。

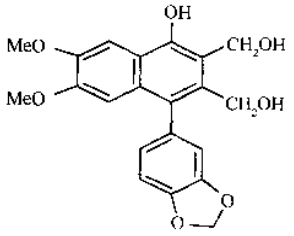


鬼臼属植物在美洲和亚洲民间早就用于治疗肿瘤，尤其是皮肤癌和疣，后来发现鬼臼毒素的抗肿瘤活性很强，所以引起广泛关注，开展了大量的结构改造和全合成研究，其中利用其差向异构体表鬼臼毒素为母体合成的鬼臼乙叉苷(etoposide, VP-16) **69** 和鬼臼甲叉苷(teniposide, VM-26) **70** 已用于临床，后来又有人合成了水溶性衍生物(NK-611) **71**。

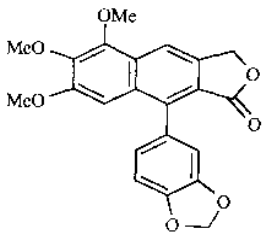


69　　**70**　　**71**

叶下珠属植物也含有多种芳基萘类，包括带内酯环的酚苷类等，如从 *Phyllanthus myrtifolius* 分到的 phyllamyricolide B (**72**)和 phyllamyricin C(**73**)都属芳基萘类[31]。

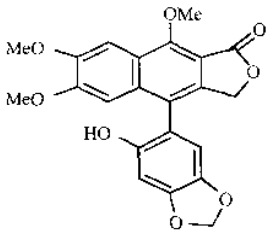


72

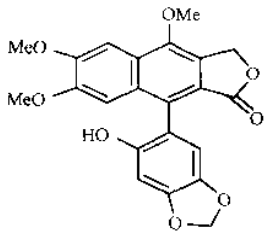


73

从爵床(*Justicia procumbens*)中分离得到的多个木脂体也为芳基萘类[32,33],如 justicidinolide A (**74**)和 B (**75**)。

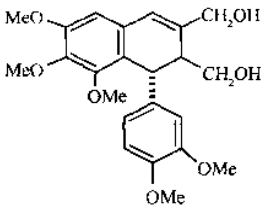


74

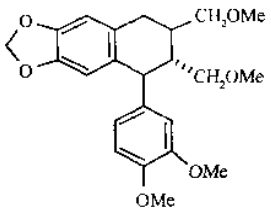


75

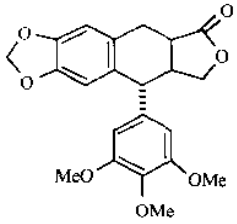
望春花(*Magnolia fargesii*)的花蕾中分离得到的(+)-magnoliadiol (**76**),为芳基二氢萘[34]。珠子草(*Phyllanthus niruri*)中的 isotetetralin (**77**)和刺柏(*Juniperus formosana*)含有的 formosalactone (**78**)和 formosanol (**79**)为芳基四氢萘衍生物[35,36]。



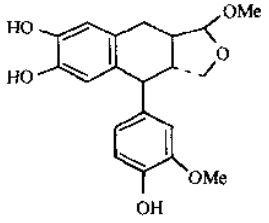
76



77



78

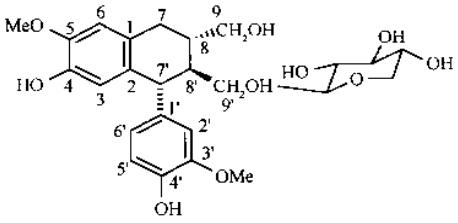


79

1. 研究实例:滇白珠中(-)-isolariciresinol-9′-*O*-*β*-D-xylopyranoside (80)的分离与结构测定[37]

滇白珠(*Gaultheria yunnanensis*)为杜鹃科植物,其根在华南地区民间作为活血化瘀药物。根的乙醇浸膏先经溶剂梯度萃取,其中正丁醇萃取物经大孔树脂 D-101 吸附,H_2O-EtOH(0%～100%)梯度洗脱,30%乙醇洗脱部分再经硅胶柱色谱和聚酰胺柱色谱分得 4 种木脂体苷类化合物,其中之一为白色粉末,熔点 209～210℃,Molish 反应阳性,FAB-MS 给出分子离子峰 492,高分辨率质谱确定其分子式为 $C_{25}H_{32}O_{10}$(实测值 M^+ 492.1992;计算值 492.1995)。UV λ_{max}^{MeOH}(nm):211.4、283.8;IR ν^{KBr}(cm^{-1}):1605、1511、1459 示有芳环存在。经 5% H_2SO_4 水浴恒温(70℃)2h,水解液 EtOAc 萃取苷元,水层用含有 0.02mol/L CH_3COONa 的硅胶 H 薄层检识(展开剂:$CHCl_3$-MeOH 3:2),5%磷钼酸显色,检出含 D-木糖。从^{1}H-NMR中 δ 4.61(1H, d, J=7.3Hz)和^{13}C-NMR δ 106.1 信号,推定该化合物为 β-D-木糖苷。根据^{1}H,^{13}C-NMR推测苷元具有芳基萘结构,^{1}H-NMR中 δ 6.83(1H, s, 6-H),6.84(1H, s, 3-H),6.98(1H, dd, J=8.0, 1.8, 6′-H),7.15(1H, d, J=8.0, 5′-H),7.27(1H, d, J=1.8, 2′-H)。其中有 2 个甲氧基(δ 3.79,3.71),2 个酚羟基,2 个醇羟基。HMBC 显示 5-C,6-H,5-OCH_3 有偶合关系;3′-C 与 2′-H,3-OCH_3 互相偶合;4-C 与 3-H 偶合;4′-C 与 2′,5′,6′-H 偶合,提示 2 个甲氧基的位置在 3′,5 位上。2 个酚羟基在 4′,4 位上。此化合物的

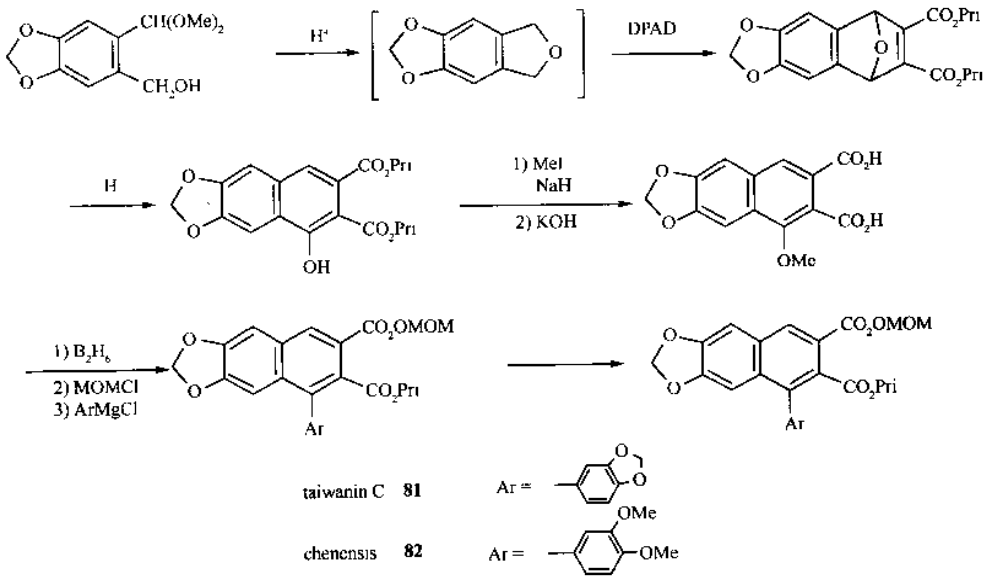
NOESY 谱显示 8-H(δ 2.47)与 7′-H(δ 4.50),8′-H(δ 2.36)与 2′-H(δ 7.27),6′-H(δ 6.98)有 NOE,而 8′-H(δ 2.36)与 7′-H(δ 4.50),8-H(δ 2.47)无 NOE,提示结构中具有 7′-βH,8′-αH,8-βH 的构型。CD 谱在 205 nm 处有正 Cotton 效应,在 218 nm 处显示负 Cotton 效应,与已知的(－)-isolariciresinol 一致。



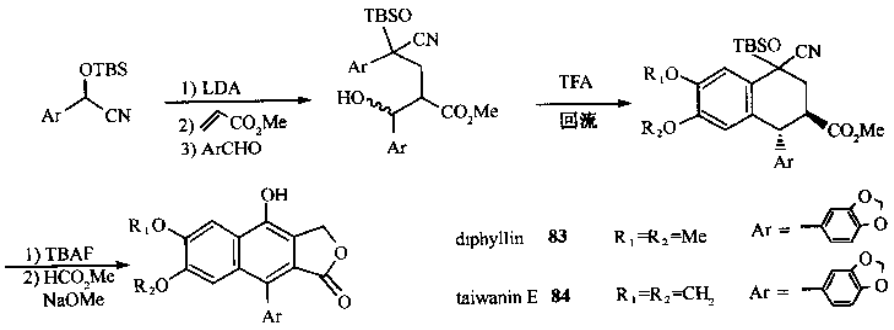
80

2. 芳基萘类的合成

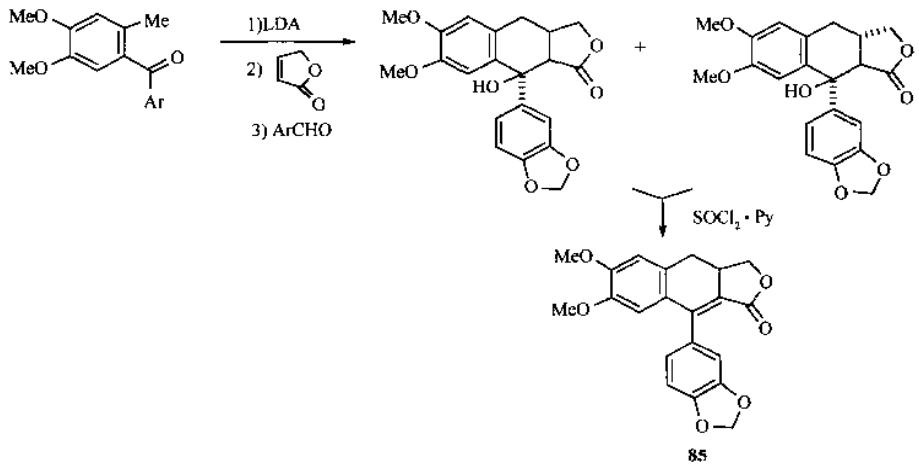
(1) 通常合成芳基萘木脂体采用 Diels-Alder 反应或 Michael 加成,如 taiwanin C (**81**)和 chenensis(**82**)的合成[38]



(2) diphyllin (**83**)和 taiwanin E(**84**)的合成[39]



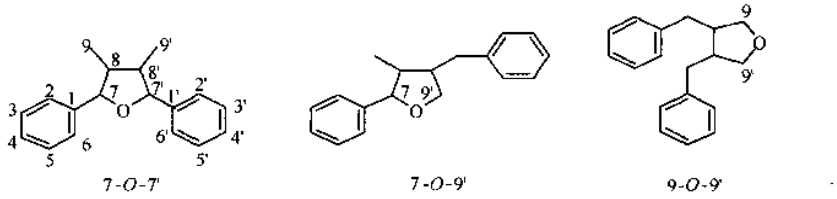
(3) 芳基二氢萘 collinusin (**85**)的合成[40]



85

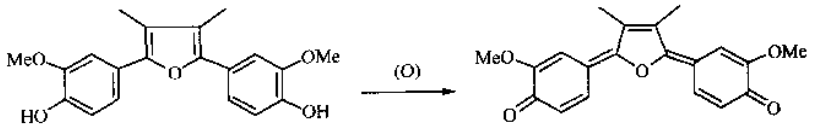
四、四氢呋喃类

四氢呋喃类(tetrahydrofuran)也是木脂体中比较丰富的一类,而且不断有新的化合物发现。根据氧环连接的方式,可分为 7-*O*-7′、7-*O*-9′和 9-*O*-9′三类四氢呋喃结构。四氢呋喃上可能存在 4 个手性碳,所以其立体化学研究也很有趣。



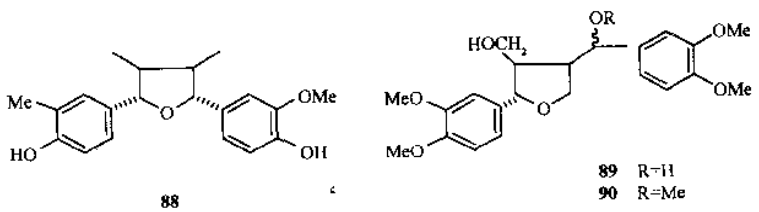
7-*O*-7′ 7-*O*-9′ 9-*O*-9′

furoguaiacin (**86**)是愈创木树脂中的一个成分,属 7-*O*-7′呋喃环连接,遇到氧化酶或碱液时,会生成醌式结构的愈创兰(guaiac blue,**87**)。



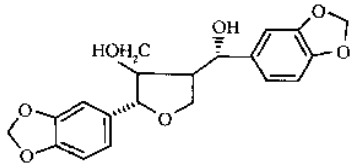
86 **87**

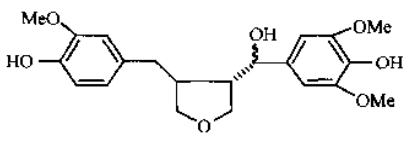
从马兜铃属植物 *Aristolochia chilensis* 中分离得到的 3-epi-austrobailignan-7 (**88**)也是一种 7-*O*-7′四氢呋喃类[41]。从辛夷(*Magnolia biondii*)中分离得到的 bionidin B **89** 和 E **90** [42],从刺柏属植物 *Juniperus thurifera* 的叶中获得的 7-hydroxydihydrosesamin (**91**)则是 7-*O*-9′连接的[43]。从柴胡属植物 *Bupleurum salicifolium* 叶中分离得到 busaliol (**92**)和 busalicifol (**93**),从荜澄茄(*Piper cubeba*)果实中得到的荜澄茄脂素(cubebin,**94**)则为 9-*O*-9′的四氢呋喃环[44]。

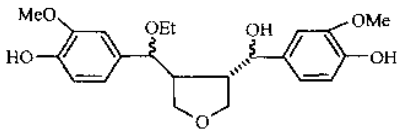


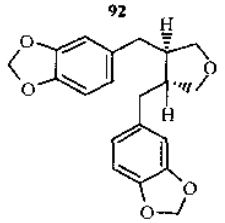
88

89 R=H
90 R=Me

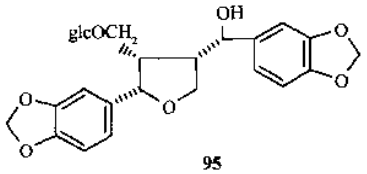

91


92

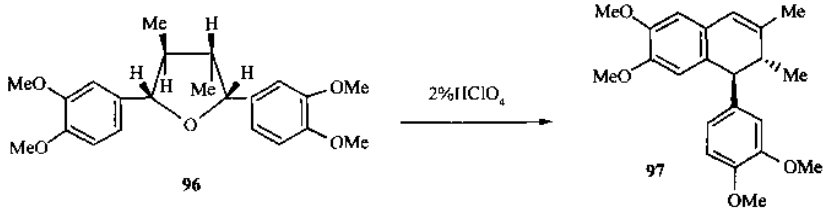

93


94

玄参科肉果草(*Lancea tibetica*)在藏医中用于治疗咳嗽和感冒,从其全草分得一种四氢呋喃类木脂体苷,命名为 tibeticoside (**95**)[45]。


95

这类化合物遇酸不稳定,如 veraguensin (**96**)在 2% 的过氯酸-乙酸溶液中,室温放置就会重排,脱水成苯基二氢萘木脂体**97**。

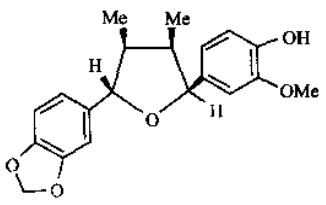


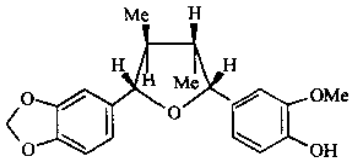
96　97

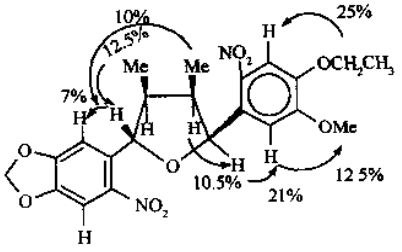
1. 研究实例

(1) 奇卡宁(chicanine,**98**)的结构[46]

奇卡宁是从湖北襄樊产的华中五味子(*Schisandra sphenanthern*)中分离得到的一个新化合物,也是从五味子科植物中分离得到的第一个四氢呋喃类木脂体。其 UV λ^{MeOH}:233 nm,284 nm, (lgε 4.10、3.87)和 MS(*m/z*):342.1459($C_{20}H_{22}O_5$, M^+)、218.0925($C_{13}H_{14}O_3$)、192.1145($C_{12}H_{16}O_2$, C_2—O 和 C_4—C_5 键同时断裂)、190.0988($C_{12}H_{14}O_2$, C_5—O 和 C_2—C_3 键同时断裂)、180.0789($C_{10}H_{12}O_3$, C_5—O 和 C_3—C_4 键同时断裂)等峰指出,奇卡宁的平面结构与 austrobailignan-7 (**99**)相同。但它们的理化数据及^{1}H-NMR不同,表明它们是立体异构体。从其^{1}H-NMR数据来看,它们都应属 2,3-顺式,4,5-反式构型(奇卡宁:H-2, δ 5.24, d, J=4.0;H-5, δ 4.48, d, J=8.5;CH_3-3, δ 0.54, d, J=7, CH_3-4, δ 0.94, d, J=7)为了阐明其相对构


98


99

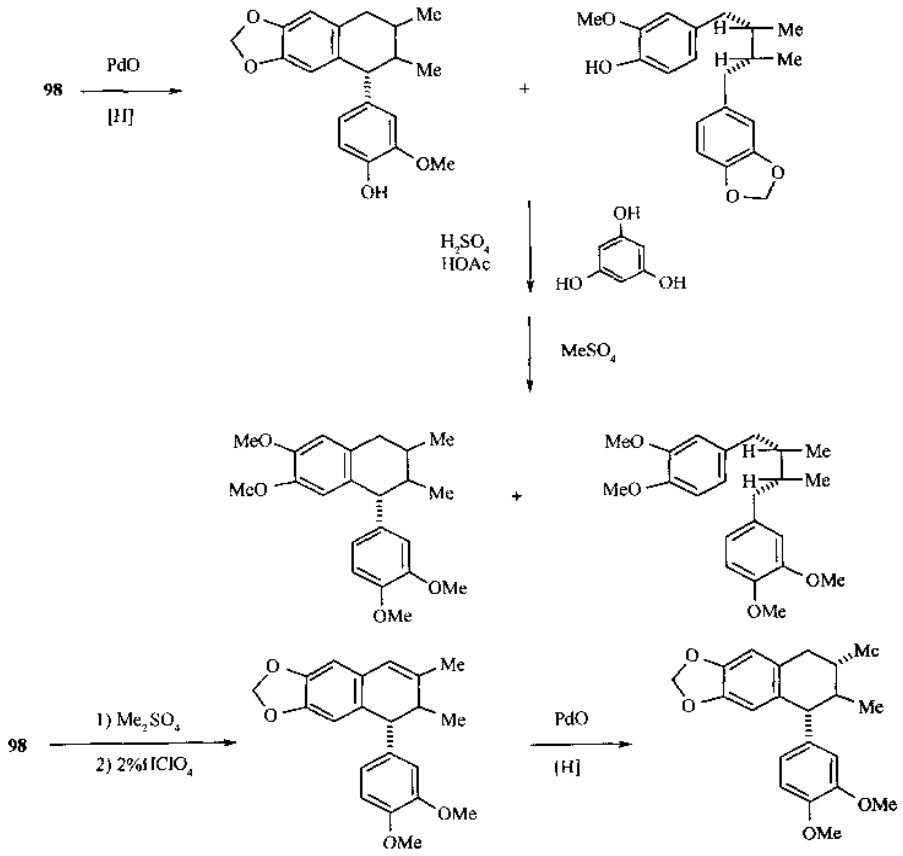


100

型，将奇卡宁的乙基化物在乙酸-乙酸酐中用硝酸硝化，得硝基化物**100**。然后测定其 NOE 增益（如 **100** 所示），证明为 2,3,4-顺式，4,5-反式构型。

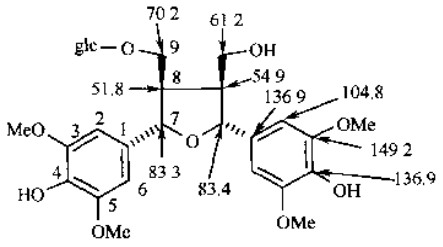
其绝对构型由下列化学转化得到阐明：将**98** 在氧化钯催化下氢化，得到两个产物的混合物。因难分离，故将该混合物在硫酸-乙酸-间苯三酚作用下脱次甲基，得到去氧去次甲基奇卡宁和去单甲基二氢愈创木脂酸。它们分别甲基化后得到绝对构型已知物 isoguaiacin 二甲醚和 *meso*-二氢愈创木二甲醚。因而，证明奇卡宁的绝对构型应为 8*S*，8′*R*，7′*S*。奇卡宁甲醚用酸处理，随后氢化得到（+）-galcatin，也证明上述结论。

以下为证明奇卡宁绝对构型的化学反应：



(2) 老鼠筋中的四氢呋喃成分**101**

老鼠筋为爵床科植物，民间用全株治疗淋巴肿大、急慢性肝炎。将该植物地上部分甲醇提取物，悬浮于水中，用乙醚脱脂，水层上大孔树脂，其 60% 甲醇洗脱部分，再上硅胶柱色谱和 HPLC-ODS，得到 7 种木脂体类化合物，其中之一为四氢呋喃类，HR-FAB 求得分子式 $C_{28}H_{38}O_{14}$，^1H和^{13}C-NMR说明存在一个葡萄糖基（δ 4.95，d，$J=7.8$）和两个 1,3,4,5 四取代芳环，两个接氧的亚甲基（δ 61.2 和 70.2），四个次甲基（δ 51.8、54.9、83.3 和 83.4），其中两个次甲基与氧相连。从这些基团中，推测结构中存在一个 7,7′-双芳基取代四氢呋喃型木脂体。用 NOE 实验证明 C-7 和 C-8，C-7′和 C-8′的相对构型为反式，而 H-8（δ 3.12）和 H-8′（δ 2.92）之间为顺式。根据接糖基的碳向低场移动的情况，说明葡萄糖基接在 9 位（δ 70.2）而不是 C-9′（δ 61.2），同时引起 β-C 向高场移动，所以 C-8（δ 51.8）比 C-8′（δ 54.9）高场。HMBC 谱进一步证明葡萄糖的端基 H（δ 4.95）与苷元的 C-9 有偶合，因此推定此化合物结构为 dihydroxymethyl-bis(3,5-dimethoxy-4-hydroxy-phenyl)tetrahydrofuran-9-*O*-β-glucopyranoside[47]。

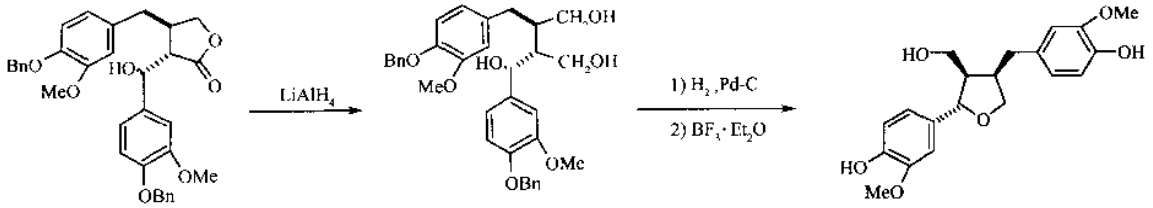


101

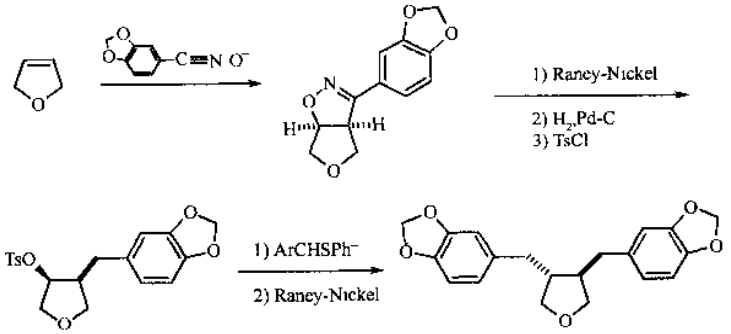
2. 四氢呋喃类的合成

1994 年，Gaboury 综述了四氢呋喃类的合成方法[48]。

(1) 二芳基丁内酯通过简单还原，然后酸催化环合[49]

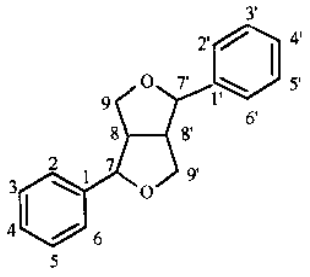


(2) deoxycubebin 的合成[50]

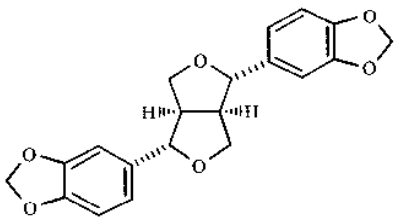


五、双四氢呋喃类

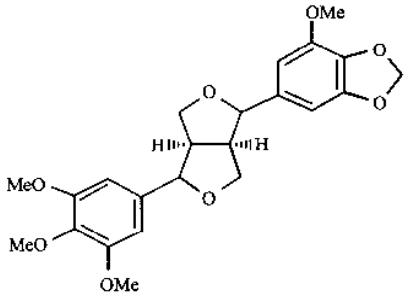
双四氢呋喃类(2,6-diaryl-3,7-dioxabicyclo[3,3,0]octane)，又称双环氧木脂体(bisepoxylignan)基本结构中具有四个手性碳，但在天然产物中两个四氢呋喃环以顺式并合，因此立体异构体的最大可靠数只相当于 3 个手性碳。



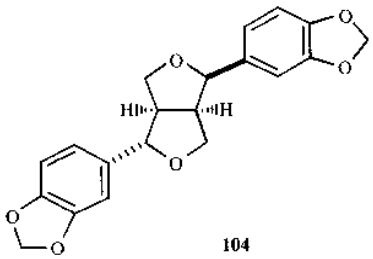
7 和 7′位的两个芳香取代基若同时与双四氢呋喃环处于反式横键构象的或顺式竖键构象的，如(+)-芝麻脂素[(+)-sesamin，**102**]和 diasesartenin (**103**)，称其为对称型。若 7 和 7′位的取代基分别与环处于顺式和反式的，如(+)-细辛脂素[(+)-asarinin，**104**]和 sylvatesmin(**105**)，则称作为非对称型。



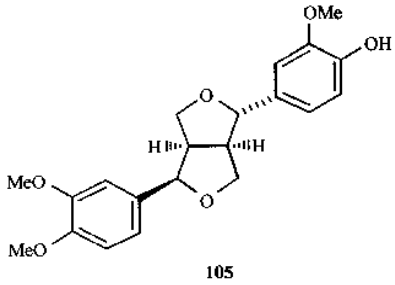
102



103

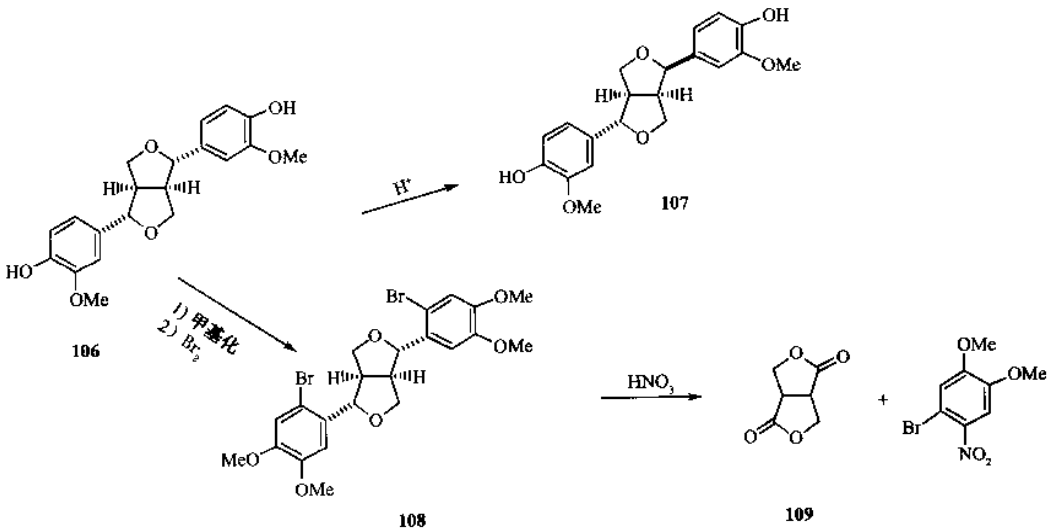


104



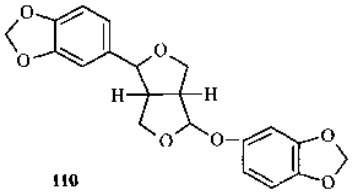
105

由于苄醚易于开裂，重复闭环时易发生异构化，所以该类化合物遇酸易发生差向异构化，对称型化合物异构化成多种不对称型化合物，如(+)-芝麻脂素的异构化产物之一为(+)-细辛脂素，又如(+)-松脂素(**106**)用酸处理后，其主要产物为(+)-表松脂素(**107**)，因此在分离过程中要注意酸的影响。该类化合物易受硝酸氧化，将四氢呋喃环氧化成双内酯环，如(+)-松脂素经甲基化、溴化得到二溴甲基化物**108**，再用硝酸氧化即得到双内酯化合物 **109** [52]。



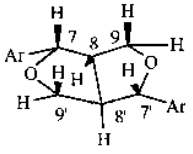
106 **107** **108** **109**

芝麻林脂素(sesamolin，**110**)也是芝麻中的成分之一，属于变形的双四氢呋喃类。结构中有一个缩醛结构，遇酸易分解为芝麻脂素(sesamin)，后者与糠醛和浓酸反应而呈红色。识别麻油的 Baudouin-Villanecchia 反应即是利用芝麻酚的生成。

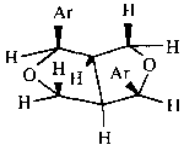


110

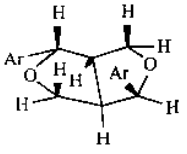
^{1}H-NMR 中苄基质子的化学位移和偶合常数可以区别四氢呋喃环上取代的构型和构象。其中两个芳基在 e 键(**111**),两个芳基在 a 键(**112**)或一个芳基 e 键、一个芳基 a 键时,^{1}H-NMR有显著区别。当**111**,**112**,由于 H-7′和 H-7、H-8′和 H-8、H-9′和 H-9 等价,因此,其^{1}H-NMR呈现半个分子的吸收峰。在不对称型化合物**113** 中,所有质子都不等价。它们的化学位移和偶合常数分别表示如下[52]:



111



112



113

111
- H-7′ = H-7: 4.67～4.75(d, J = 5)
- H-8′ = H-8: [2.85～3.25(m)]
- H-9′a = H 9a: ~3.90(dd, J = 9.0/3.7)
- H-9′e = H-9e: ~4.25(dd, J = 9.0/7.5)

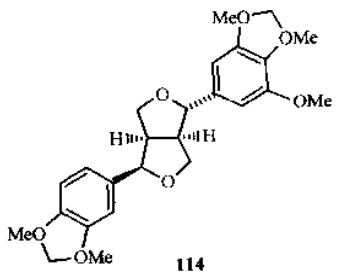
112
- 4.86～4.90(d, J = 5)
- ~3.18(m)
- ~3.68(dd, J = 9.5/2.5)
- ~3.59(dd, J = 9.5/8.5)

113
- H-7′e: 4.76～4.85(d, J = 5)
- H-7a: 4.36～4.45(d, J = 1)
- H-8: ~2.90(m)
- H-8′: ~3.30(m)
- H-9a: ~3.80(m)
- H-9e: ~4.10(m)
- H-9′a: ~3.30(m)
- H-9′e: ~3.80(m)

从上述数据清楚地看出:苄基质子(H-7′和 H-7)的化学位移值及偶合常数可以区别芳基的构型和构象。因苄基质子所处的区间无其他质子遮盖,易于归属。不对称型的 H-7a(或 H-7′a)因受 Ar-7′a(或 Ar-7a)的屏蔽,处于最高场(δ<4.5);对称型的芳基二竖键取代,其 H-7′e 和 H-7e(等价)处于最低场(δ～4.90);对称型芳基二横键取代,其 H-7′a 和 H-7a(等价)处于上述二者之间(δ 4.67～4.75)。其他质子也有显著区别,但因有时相互遮盖而难于利用。这些特征,可用于阐明立体化学。

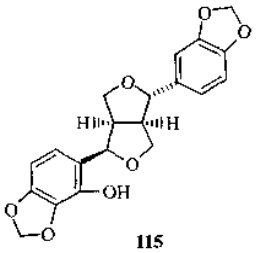
^{13}C-NMR[70]:对称型化合物 C-1 和 C-5、C-2 和 C-6、C-4 和 C-8 等价。若芳基处于反式横键(如**111**)时,芳基的 C-1(C-1′)在 δ 133.50～136.70,C-8(C-8′)在 δ～54,C-7′(C-7)在 δ 85～88,C-9′(C-9)在 δ 70～72。若芳基处于顺式竖键(如 112)时,各碳相对高场 2～5 ppm:C-1(C-1′)在 δ 130.80～134.16,C-8(C-8′)在 δ～50,C-7′(C-7)在 δ 81～84,C-9(C-9′)在 δ68～70。不对称型**113** 各碳的化学位移不等价。

更详细的 NMR 数据可参考下列植物中已分离的双四氢呋喃类,如望春花(*Magnolia fargesii*)花蕾中的 epimagnolin A (**114**)[53]。



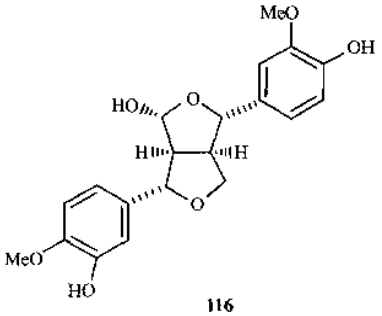
114

菟丝子(*Cuscuta chinensis*)叶中的 2′-hydroxyasarinin (**115**)[54]的结构如下:



115

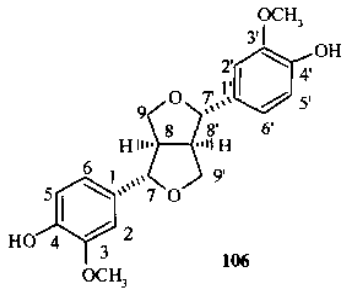
点头菊(*Cremanthodium ellisii*)中的 crellisin A 是一种下列化合物(**116**)[55]的 diangeloyl ester。



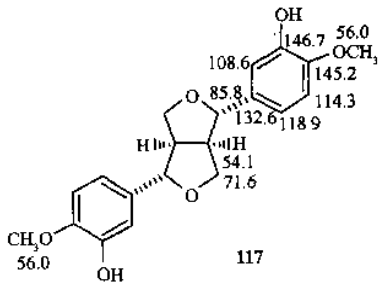
116

1. 研究实例:威灵仙中 clemaphenol (117)的结构测定[56]

威灵仙(*Clematis chinensis*)的干燥根和根茎,经 95%乙醇热回流提取,浸膏的乙酸乙酯可溶部分经硅胶柱色谱分离得一木脂体化合物 clemaphenol A,高分辨质谱给出分子式 $C_{20}H_{22}O_6$,$[\alpha]_D^{25}+72°(CHCl_3)$,IR:3400(br, 羟基)、1610～1460(芳环)、860、830(1,2,4 或 1,3,4-三取代苯)。^{1}H-NMR可见到 δ 5.6(OH)、3.90(—OCH_3)、3.10(8,8′-H)、4.74(d, 4.1)为 7,7′-H,3.87(dd, 8.8, 3.3)和 4.26(dd, 8.8, 6.6)分别为 9,9′的 a 键和 e 键 H,这是一个四氢呋喃并四氢呋喃的结构。苯环连接在 7,7′位,是一个对称型结构,假如不对称,则 9,9′的 H 将是多重峰,而不是 dd 峰。芳香 H 只有三组峰,6.90(d, 1.1)、6.82(dd, 8.2, 1.1)、6.89(d, 8.2),说明两个苯环取代相同,可能为 1,3,4-取代,3.90(3H)为甲氧基,5.61(br-)为羟基,再结合 ^{13}C-NMR数据,推测该化合物可能为(+)-松脂素**106** 或另一新结构命名为 clemaphenol A(**117**)。



106



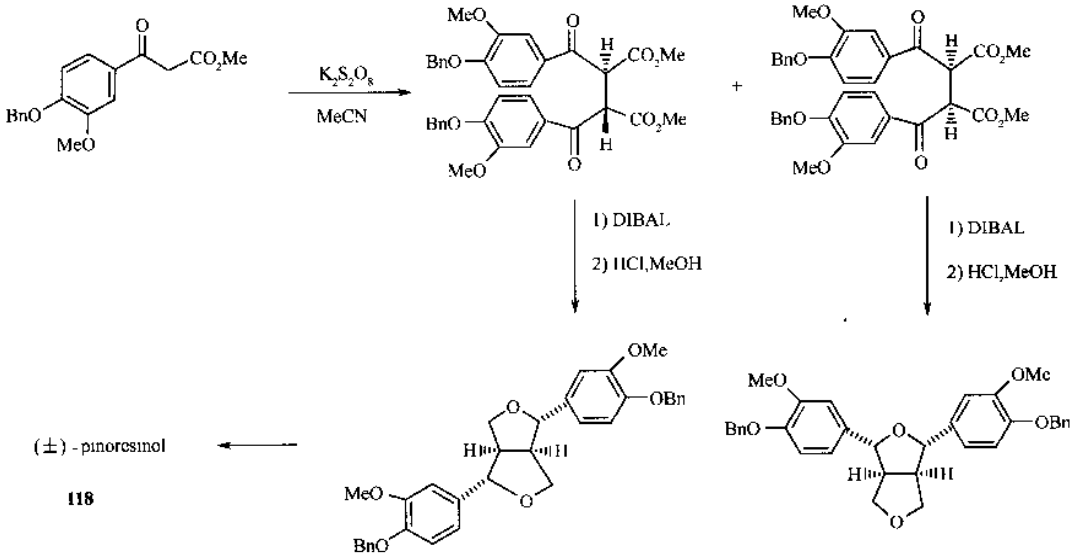
117

余下的问题是推测—OH 和—OCH_3 的取代位置。根据经典的化学显色方法确定酚羟基的位置,将此化合物,阿魏酸和异阿魏酸同点于一块聚酰胺薄膜上,90% 甲醇展开,Gibbs 试剂(2, 6-dibromoquinonechloroimide)显色,如果酚羟基的对位有游离 H,则反应呈蓝色,而且不褪色。薄层的显色结果如下:该化合物和异阿魏酸斑点都呈湖蓝色,而且长久不褪色,而阿魏酸斑点呈深蓝色,在空气中蓝色褪去,且斑点中间变成黄色,由此推断化合物中苯的取代位置与异阿魏酸一致。

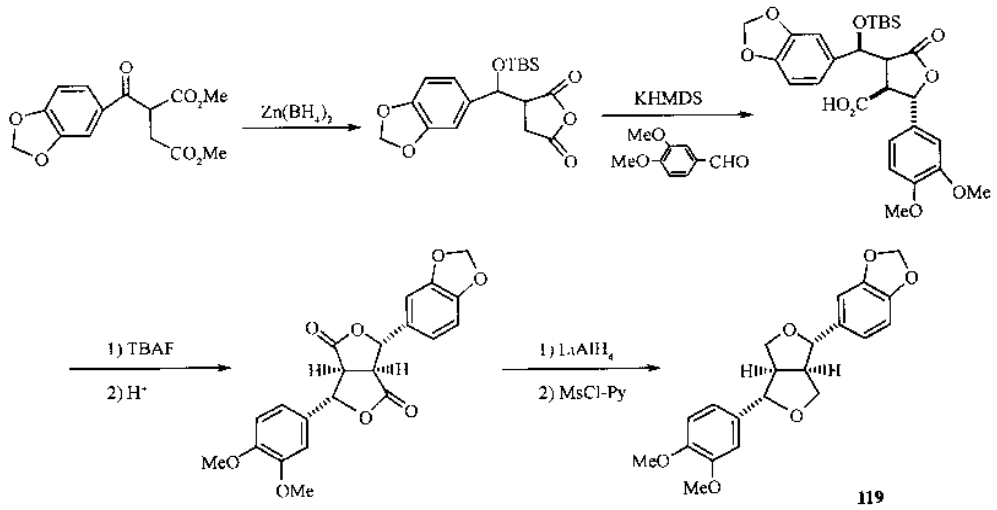
2．双四氢呋喃类的合成

（1）pinoresinol（**118**）的合成

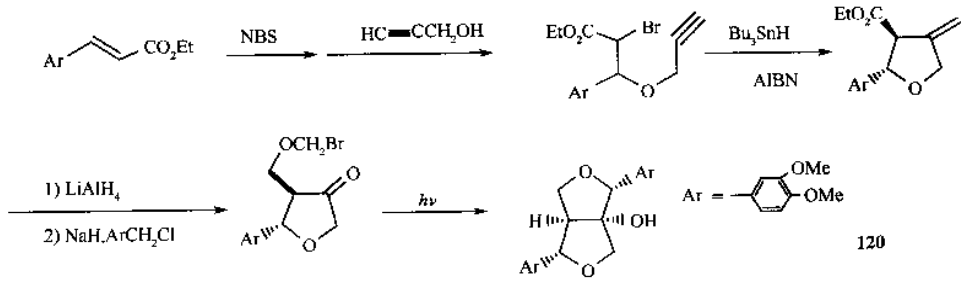
先用过硫酸钾将 β-酮酯氧化偶联，然后用 DIBAL 还原和酸催化环合，其中内消旋体还原后得到的是 2，4 取代的异构体[57]。



（2）methyl pipertol（**119**）的合成[58]

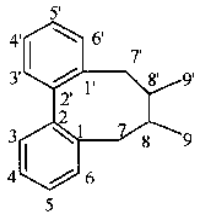


（3）isogmelinol（**120**）的合成[59]

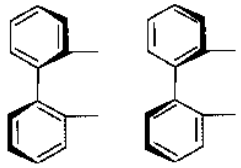


六、联苯环辛烯类

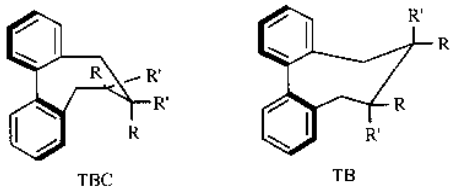
联苯环辛烯类(dibenzocyclooctene)木脂体主要来源于五味子科植物,由于某些化合物具有重要的生物活性,如 steganacin 有抗白血病作用,五味子酯甲及其类似物具有保肝和降低血清转氨酶作用,因此这一领域研究曾经十分活跃。其结构式如下:



此类化合物具有多个手性因素,其立体异构体较多,它们以联苯 *R* 和 *S* 构型分为两个系列,其联苯 *S* 的代表化合物 gomisin D 和联苯 *R* 的代表化合物 gomisin A 的结构和绝对构型均为 X 射线所确证。

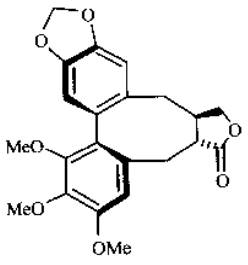


这类木脂体环辛烯的构象多数为扭曲的船——椅式(TBC),部分为扭曲的船式(TB)。



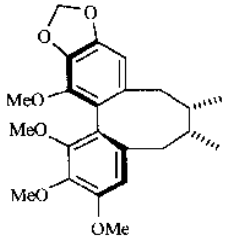
联苯的绝对构型可由圆二色谱的 Cotton 效应符号推定。若在 250 nm 左右出现负的 Cotton 效应,表明为 *S* 构型,而正的 Cotton 效应则表明为 *R* 构型。同时在 220 nm 左右出现一个相反符号的 Cotton 效应加以佐证。关于旋光度,虽然多数联苯 *S* 型化合物为左旋,*R* 型化合物为右旋,但已有一些 *S* 构型的化合物具有右旋旋光度的报道,因此不能以旋光度符号决定绝对构型。

根据联苯的构型和环辛烯的结构,文献中又将此类木脂体以某一化合物为代表,分成若干系列,如 gomisin、kadsurin、schisantherin、kadsulignan、stegane (**121**)、schizandrin-wuweizisu、heteroclitin 等系列。

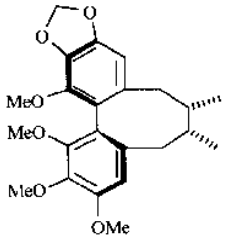


121

这类成分常是一种成分多个名称,如 isokadsuranin (**122**)又名 deoxygomisin O 或 gomisin N,deoxygomisin A(**123**)又名 r-schizandrin 或 wuweizisu B。

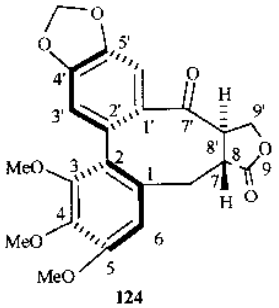


122



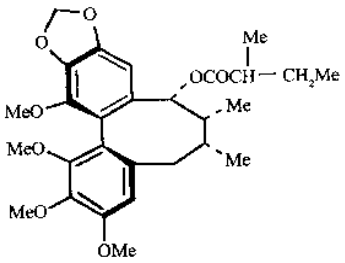
123

因此要了解和正确使用化学命名，如(－)-steganone（**124**）的化学命名为：(2Ra)-(8β,8′α)-3,4,5-trimethoxy-4′,5′-methylenedioxy-7′-oxo-2,2′-cyclolignano-9,9′-lactone。



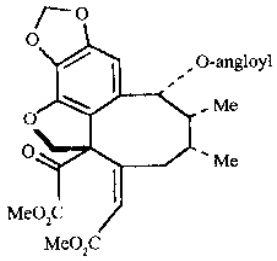
124

近年来，不断从南五味子属(*Kadsura*)发现新的联苯环辛烯类，如从异味南五味子(*K. heteroclita*)的茎中分离出一系列叫 heteroclitin 的化合物(**125**,**126**,**127**)和 Radsulignan E(**128**)[60,61]。



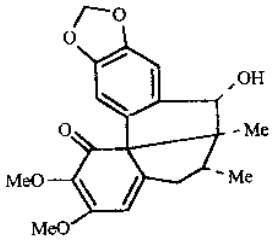
heteroclitin A

125



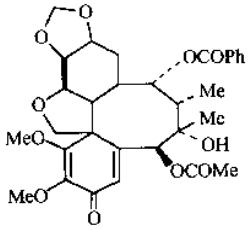
heteroclitn F

126



heteroclitin G

127

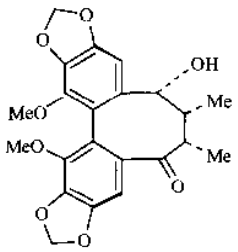


kadsulignan E

128

南五味子(*K. longipedunculata*)的根皮中具有 interiorin 相似结构的化合物[62]。

从黑老虎(*K. coccinea*)种子中分离得到 schisantherin Q (**129**)[63]。



129

联苯环辛烯类的化学合成：

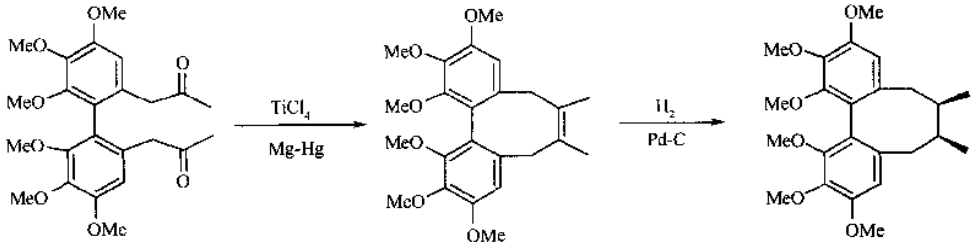
1）二芳基丁烷氧化偶联成联苯环辛烯类(**131**)[64]。



130 131

除 DDQ、TFA 外也可用钌或铊试剂进行反应[65]。

2）deoxyschizandrin (**132**)的合成，包括双酮的还原偶联和双键的氢化[66]。

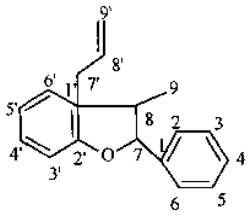


132

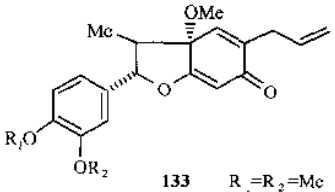
七、苯并呋喃类

苯并呋喃类(benzofuran)可归纳到新木脂体类内，其中一个 C_6—C_3 单位的 C_3 部分与苯环相连，并形成一个呋喃环。

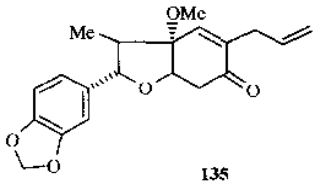
呋喃环及与呋喃环并合的苯环有时部分氢化，而存在二氢、四氢和六氢的衍生物，常存在于樟科和胡椒科植物中。其结构式如下：



从海风藤(*piper futokadsura*)和山蒟(*P. hancei*)中分离得到的海风藤酮(kadsurenone，**133**)和山蒟素(hancinone，**134**)、kadsurin A (**135**)等具有强的抑制血小板活化因子(PAF)作用。

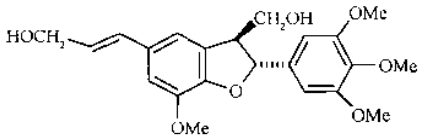


133　R_1=R_2=Me
134　R_1=R_2=CH_2



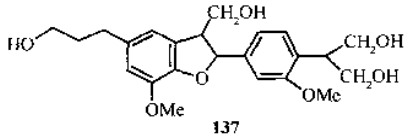
135

近年来，在其他科属中也发现不少苯并呋喃类，如从和黄连（*Coptis japonica*）得到的 woorenogenin（**136**）是几种苷的苷元[67]。

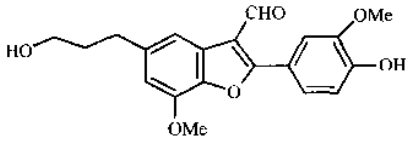


136

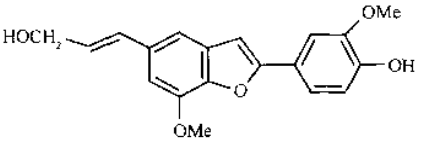
从地枫皮（*Illicium difengpi*）得到的**137**[68]，从丹参（*Salvia miltiorrhiza*）的根中得到的**138**[69]和从椿叶花椒（*Zanthoxylum ailanthoides*）中分离得到的 ailanthondol（**139**）[70]都属于苯并呋喃类。



137



138

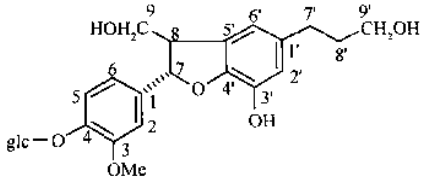


139

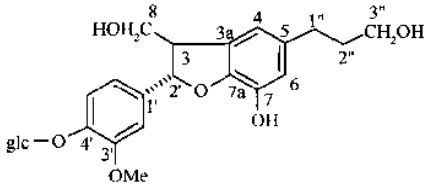
研究实例：

1）从西洋参（*Panax quinquefolium*）的茎叶中分离得到一种苯并呋喃类化合物西洋参 L_1（quinquenin L_1，**140**），它从正丁醇部分经大孔树脂柱色谱和反相硅胶色谱分离得到[71]。

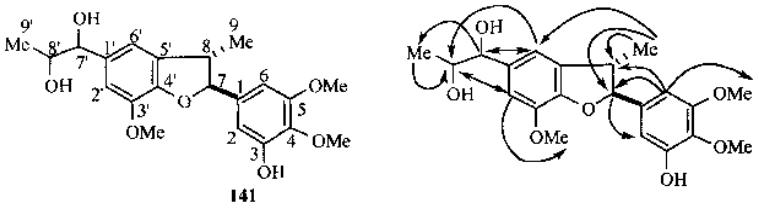
化合物**140** 为白色粉末，熔点 224～226℃，10%硫酸水解可检出 D-葡萄糖，^{1}H-NMR（C_5D_5N）谱给出 5 个芳香质子信号 δ 7.48（1H，br，d，J=8.5）、7.32（1H，brs）、7.20（1H，d，J=8.5）、7.04（1H，brs）、6.91（1H，brs），说明结构可能存在 1，3，4-三取代和 1，3，4，5-四取代的 2 个苯环，此外尚有 2 个甲氧基信号 δ 3.67和 3.59，一组葡萄糖的信号 δ 5.66（d，J=7.0），δ 4.0～4.8（6H）。根据^{13}C-NMR测得除芳碳和甲氧基之外的 6 个碳信号 δ 87.9、64.4、62.3、56.2、36.1、32.7，推测可能是一个木脂体化合物，而且可能存在呋喃环，查阅文献得知这是一个已在植物 *Larix leptolepis* 中分离得到过的化合物，可以命名为 3′，9，9′-hydroxy-3-methoxy-4′，7-epoxy-neolignane-4-*O*-β-D-glucopyranoside（原文献命名为 2，3-dihydro-2-（4-*O*-β-D-glucopyranosyl-3-methoxyphenyl）-3-hydromethyl-5-whydropropyl-7-methoxy-benzofuran）。



140



2）倒卵叶润楠（*Machilus obovatifolia*）树干的甲醇提取物的氯仿可溶部位经硅胶反相柱色谱，得一油状化合物 machilusol E（**141**），对肿瘤细胞株 P_{388} 的 ED_{50} 为 1.25μg/mL，$[\alpha]_D^{25}$ −22.3°，EI-MS 390，HRMS 390.1678（$C_{21}H_{26}O_7$ 计算值 390.1679）。根据以往的文献报道以及一对相邻质子偶合常数很大，为 8.8Hz，UV 最大吸收为 289 nm（lgε 3.19），初步推测它是一种苯并呋喃类化合物。IR 3400 cm^{-1} 为酚羟基；1600 cm^{-1}，1500 cm^{-1} 为芳环吸收峰；^{1}H-NMR δ 3.89 和 4.34 信号及 ^{13}C-NMR δ 72.3 和 79.6，提示含有一个丙烷基 1,2-醇边链，其中两个醇羟基分别在 δ 2.44 和 2.56，可为重水交换。根据 1,2-二羟基苯丙素 8-位甲基向高场位移的信号，以及呋喃环上两个质子的较大的偶合常数，推测具有 *threo* 构型。由芳香区域质子推测存在两对邻偶质子 δ 6.58 和 6.65（J = 2.0）、6.74 和 6.79（J = 2.0），推测 **141** 结构为 7,8-dihydro-7-(4,5-dimethoxy-3-hydroxyphenyl)-1′-(1,2-dihydroxypropyl)-3′-methoxy-8-methylbenzofuran。这个结构进一步又得到 ^{13}C-NMR、DEPT、HMQC 和 COSY 实验的确证。

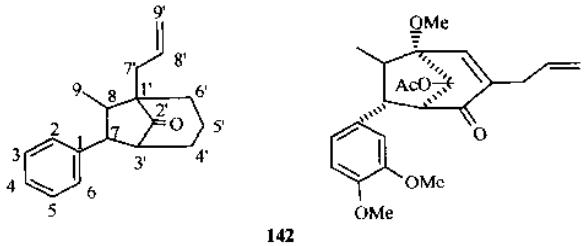


141

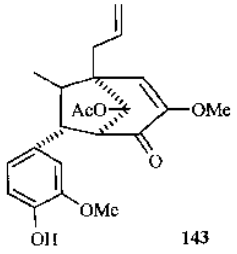
关于酚羟基的位置，为了证明它的对位未被取代可用 Gibbs 试剂（2,6-dibromoquinonechloroimide）佐证，此化合物 Gibbs 试剂在 pH = 9.4 的缓冲溶液中形成蓝色化合物[72]。

八、双环辛烷类

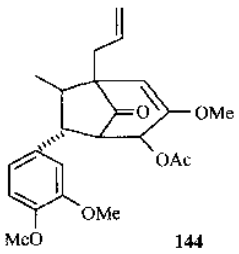
木脂体的双环辛烷类[bicyclo(3,2,1) octane]是指结构中有两个脂环，环上共有 8 个碳原子，它可以看成是木脂体结构中一个 C_6—C_3 单元的芳环被部分氢化了，而另一个 C_6—C_3 单元的 C_3 部分正是连接在这个被氢化的芳环上。目前发现的这类结构大多集中于胡椒属、*Ocotea* 属、*Aniba* 属等热带植物中，如从毛蒟（*Piper puberulum*）中分离得到的 puberulin A（**142**）、C（**143**）[73]，从 *Ocotea porosa* 中分离得到的化合物 A（**144**），植物 *O. bullata* 中的 ocubellenone（**145**）[74]。



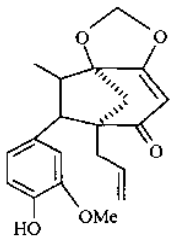
142



143



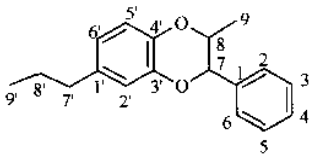
144

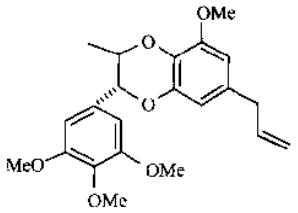


145

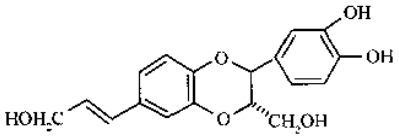
九、苯并二氧六环类

当苯环上3,4-二羟基分别与另一个C_6—C_3单元的侧链形成二氧六环后，就成为苯并二氧六环类(benzodioxane)木脂体，如樟科植物 *Eusideroxylon zwageri* 中的 eusiderin A (**146**)，从美洲商陆(*Phytolacca americana*)种子分离得到的 americanol A (**147**)和 isoamericanol A (**148**)都是苯并二氧六环类[75]，其中 eusiderin A 是这类结构的代表[76]。有时文献中把通过一个氧原子连接的也归属这一类，如圆柏(*Juniperus chinensis*)中分离得到的化合物**149**，但本章把它归属于氧木脂体类[77]。

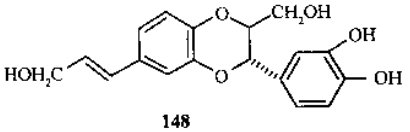




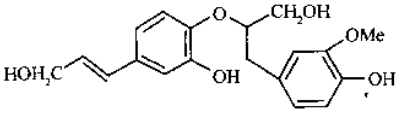
146



147



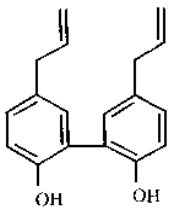
148



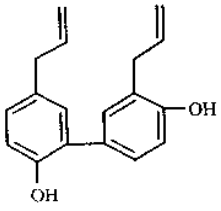
149

十、联　苯　类

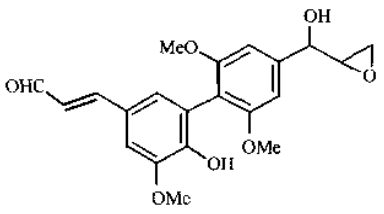
联苯类(biphenyl derivative)木脂体是两分子苯丙素的两个苯环直接联结而成，多数3—3′位相连。厚朴酚(magnolol，**150**)从厚朴(*Magnolia officinalis*)树皮中获得，自日本厚朴(*M. obovata*)树皮中得到的和厚朴酚(honokiol，**151**)是其异构体。从 *Irvingia malayana* 木材中分得的化合物 **152** 和从甜菜中得到的 **153** 则有更多含氧基团，UV 谱上也很有特征[78,79]。



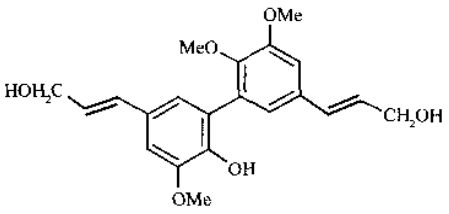
150



151

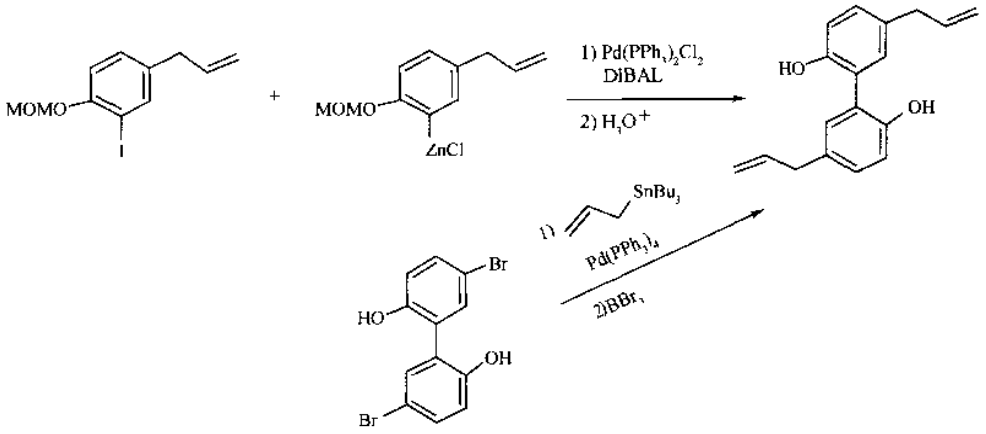


152



153

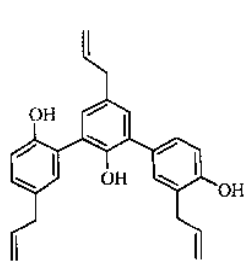
这类化合物合成可以通过苯环之间的偶联或联苯上接侧链等方法完成[80]。



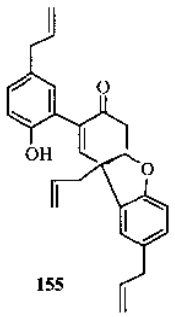
十一、低聚木脂体类

低聚木脂体类(oligomeric lignas)是指两个以上 C_6—C_3 单元聚合而成的天然成分,包括倍半木脂体(sesquilignan)、二聚木脂体(dimeric lignan)、三聚木脂体(trilignan)等,随着分离技术的进步和结构解析水平的提高,近年来新低聚木脂体的发现明显增加,而且各种低聚木脂体常在同一植物中共存。

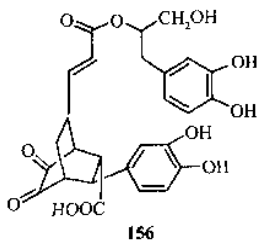
从云南八角(*Illicium simonsii*)的树皮中分离得到的 simonsinol (**154**)[81],从野八角(*I. dunnianum*)的地上部分得到的化合物**155** [82],从云南丹参(*Salvia yunnanensis*)根中获得的带有二环辛烷的化合物**156** [83]和从和黄连的根茎中分离得到的 cyclohexa-2,5-dienone (**157**)[84]都属于倍半木脂体。



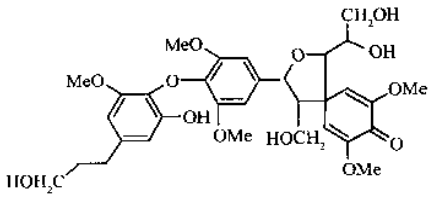
154



155

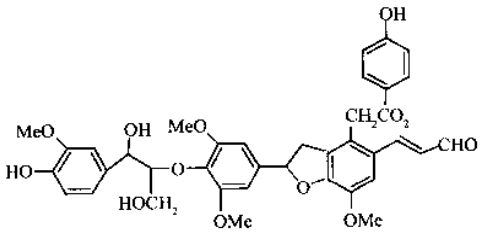


156

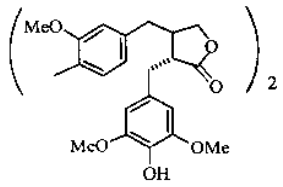


157

从钻天柳(*Chosenia arbutifolia*)树干中分离得到一个二聚木脂体**158**,它是 erytho 和 threo 异构体的混合物[85]。从牛蒡子中分离得到的 neoarctin B (**159**),则是一个对称的二聚体[86]。

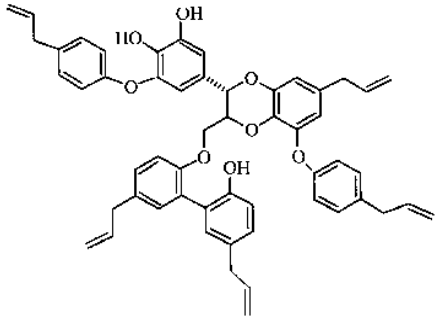


158



159

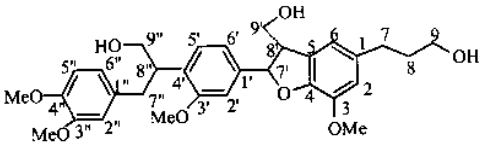
从日本厚朴树皮分离得到的 magnolianin (**160**)是一种三聚木脂体[87]。



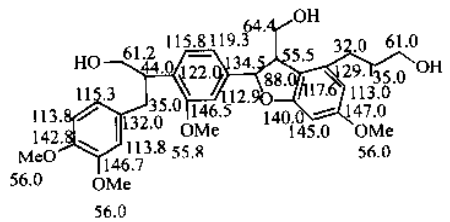
160

研究实例

菊科大翅蓟属植物 *Onopordum illyricum*,在民间用于抗菌、止血剂。该植物的地上部分的氯仿提取物经硅胶柱色谱,再经 C_{18} *u*-Bondapak 反相 HPLC 制备色谱得一淡黄色油状化合物**161**,经 ESIMS、FABMS 和 ^{13}C-NMR推定分子式为 $C_{31}H_{38}O_8$,其中分子离子峰(M-H)537 很低,碎片峰包括 397、340、322 和 310。根据以往对该植物的成分报道,再根据分子式和相对分子质量推测,它可能是由三个苯丙素单元组成的分子。分析 ^{1}H-NMR和 ^{1}H-^{1}H DQF-COCy 谱,看到有四个芳香甲氧基(δ 3.76、3.83、3.85 和 3.87),两个 1,3,4-三取代芳环[δ 6.85(1H, dd, J=8.0, 1.5)、6.80(1H, d, J=8.0)、6.75(1H, brs)、6.68(1H, d, J=8.0)、6.61(1H, d, J=1.5)和 6.56(1H, dd, J=8.0, 1.5)],一个 1,3,4,5-四取代苯环[δ 6.97(1H, brs)和 6.75(1H, brs)],δ 5.52 的双峰质子推测为接芳环又接氧的碳上氢,可能为组成二氢呋喃环的一部分,另一个质子在 δ 3.50。该化合物 DQF-COSY 和 TOCSY 谱存在三个 C_7—C_9 部分,它们分别与芳环相连,其中间的一个苯丙素的 C_7—C_9 部分形成一个二氢呋喃环,而且根据 HMBC 数据以及与已知化合物的比较,确定苯并呋喃环的立体化学,7′和 8′位为反式取代,即 H-7′和 H-9′a,H-8′和 H-2′有交叉峰。并对^{13}C-NMR数据给予归属[88]。



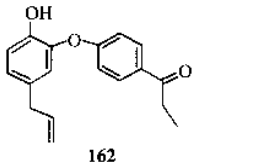
161



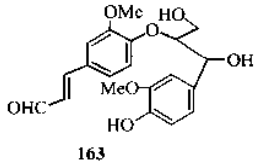
十二、其 他 类

除了上述各类木脂体类化合物之外，自然界还有一类 2 个 C_6—C_3 连接发生较大变异，或者只有一个 C_6—C_3 单元与其他天然成分相连的成分。本章把它们都归属于其他类，其中包括二芳基醚类(biaryl ether)、去甲基木脂体类(norlignan)、螺二烯酮类(spirodienone)、黄酮木脂体类(flavonolignan)、香豆素木脂体类(coumarinolignan)、木脂体环烯醚萜类(lignan-iridoid complex)等，下面举一些具体的例子。

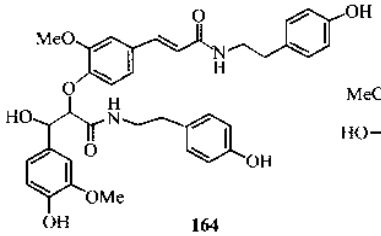
从云南八角(*Illicium simonsii*)中获得的 isomagnolone **162**，是一种二芳基醚类，两个 C_6—C_3 单元以氧原子相连，又称氧木脂体类[89]。从厚壳树属 *Ehretia ovalifolia* 得到的化合物**163** [90]，和从大麻(*Cannabis sativa*)果实中分离得到的结构上带有对羟基苯乙胺基的 cannabisins E **164** 和 F **165** 都属于这一类[91]。



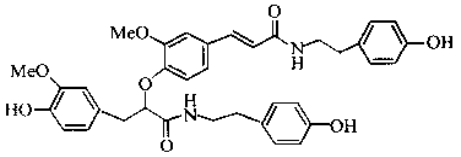
162



163

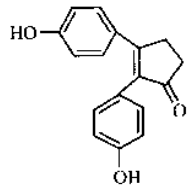


164

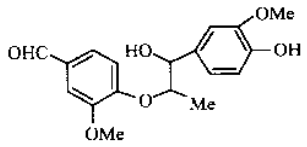


165

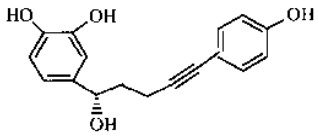
有的木脂体结构中侧链部分失去 1～2 个碳原子，文献中仍然把它们归属于木脂体类，如从 *Araucaria angustifolia* 分离得到的化合物 **166**，从 *Persea obovatifolia* 叶中分离得到的化合物 **167** [92]，从大叶仙茅(*Curculigo capitulata*)得到的化合物**168** [93]，从椿叶花椒(*Zanthoxylum ailanthoides*)得到的 ailanthondol **169** [94]则都属于这类去甲木脂体类。



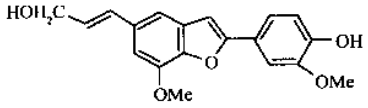
166



167

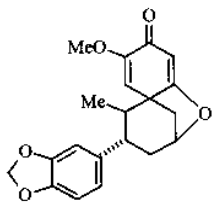


168

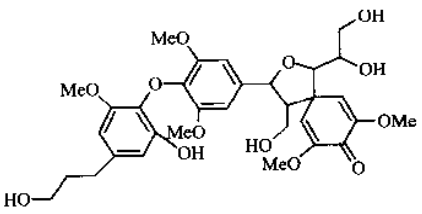


169

从海风藤(*Piper futo-kadsura*)茎叶中分离得到的 futoenone **170** 和从 *Coptis japonica* 根茎中得到的化合物 **171** 为螺环二烯酮类[95]。

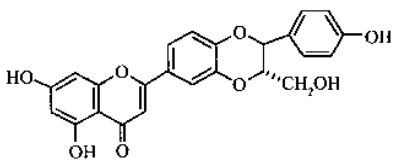


170

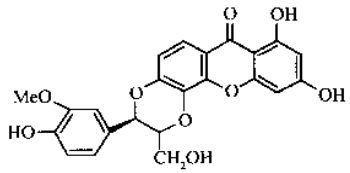


171

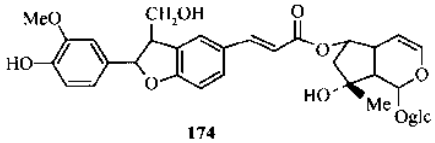
从毛蕊花属植物 *Verbascum sinaiticum* 叶中得到的 sinaiticin **172** 是一种黄酮木脂体类[96]。从黄牛木(*Cratoxylum cochinchinese*)分离得到的 5′-demethoxycadensin G **173** 是一种酮木脂体(xanthonolignan)[97]，从大叶醉鱼草(*Buddleia davidii*)根中获得多种木脂体环烯醚萜类化合物**174** 为其中之一[98]。



172

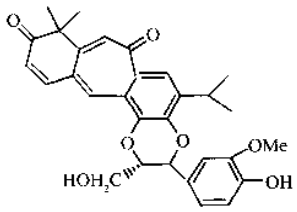


173

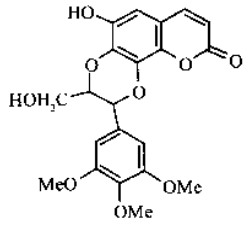


174

从紫杉(*Taxus brevifolia*)树皮中发现一种二萜木脂体(diterpenelignan)brevitaxin **175** [99]，从植物 *Hemidesmus indicus* 中分离得到的是一种香豆素木脂体**176** [100]。

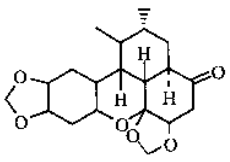


175

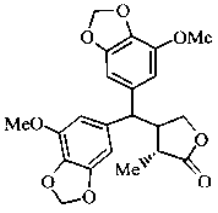


176

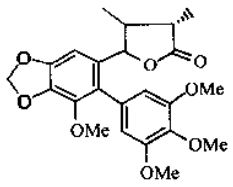
植物中还有一类木脂体类，其中一个 C_6—C_3 单元可能发生了开环，断裂，然后重新连接的过程，骨架有了较大的变化，我们把它们称断联木脂体类(Secolignans)，如三白草(*Saururus chinensis*)中的 Sauchinone **177** [101]，草胡椒属 *Peperomia glabella* 中的 peperomin A **178** [102] 及像 eupodipnones 的氧化产物 eupomatilones **179** [103] 都可以归属为这一类。



177



178



179

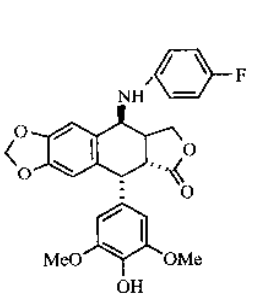
第三节　木脂体的生物活性

天然木脂体结构类型众多，并有大量的取代基变化和立体异构体，因此生物活性十分广泛。但在已经发现的化合物中，经过较深入活性测试的仍然很少。下面将举例说明木脂体的一些主要生物活性。

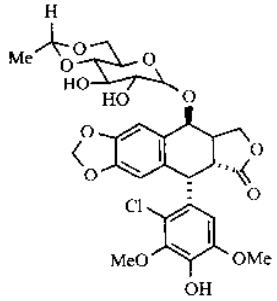
一、抗肿瘤活性

不少木脂体具有细胞毒作用，可以抑制肿瘤细胞的生长。其中鬼臼毒素是研究得较多的一种细胞毒成分，它存在于小檗科鬼臼属的许多植物中，如鬼臼、八角莲、窝儿七等植物中。从这些植物中提取的树脂民间

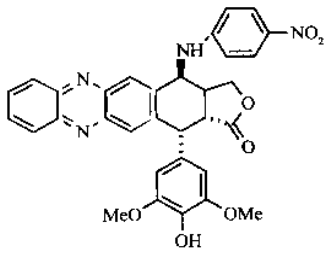
曾用作泻剂、治疣等，后来发现其中所含的木脂体类成分具有抑制肿瘤细胞增殖的作用，鬼臼毒素为主要活性成分，曾将其提纯试用于治疗皮肤癌、湿疣等，但毒性较大，临床上难于推广应用。后经结构改造，半合成一系列化合物，其中 VP-16(etoposide)和 VM-26(teniposide)已在临床上广泛应用。在衍生物制备中发现 7，8，7′，8′-位的构型是重要的，天然的为 7α，8β，7′α，8′α，假如异构化成苦鬼臼毒素，即 8α，8′β 后，细胞毒活性就大大下降。进一步研究发现，鬼臼毒素类的作用机理是抑制人 DNA 复制中十分关键的拓扑异构酶 II (topoisomerase II)的活性，进而用这种酶进行活性粗筛，又从鬼臼毒素的衍生物中发现很多各有特色的抗肿瘤活性化合物[104]。例如：



teniposide

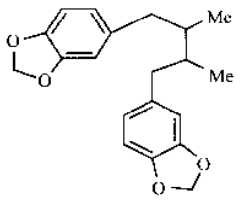


chlorotoposide

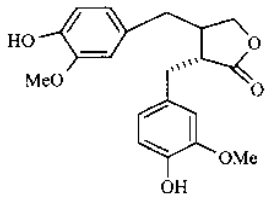


4′-*O*-demethyl-4β-(4‴-nitroanilino)-4-desoxy-podophenazine

其他类型的木脂体如 machilin、matairesinol 和厚朴酚(**151**)、厚朴酚(**150**)等也具有细胞毒活性[105]。



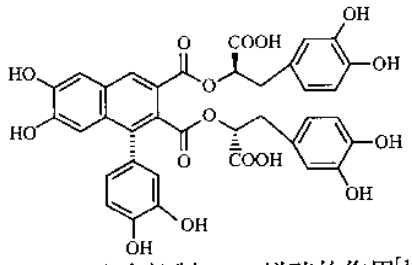
machilin



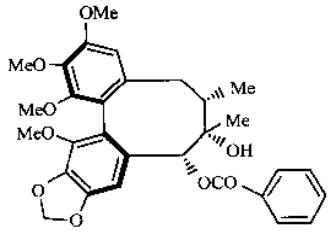
matairesinol

二、抗病毒活性

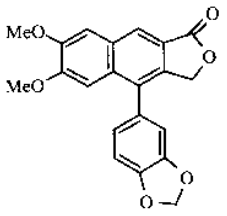
新疆紫草(*Arnebia euchroma*)民间用于治疗麻疹不透。从中分离得到的咖啡酸四聚体，在植物体内以 K^+、Na^+ 盐存在，具有抑制 HIV 的活性[106]。其中抑制 H_9 细胞生长活性(IC_{50})为 45～60μg/mL。



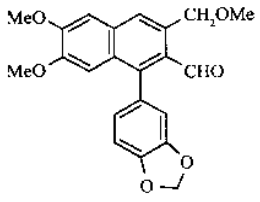
从内南五味子中分离得到的 gomisin G 也有抑制 HIV 增殖的作用[107]。其结构式如下：



其他如从叶下珠属草药 *Phyllanthus myrtifolius* 中分离到的木脂体类 retroiusticidin B 和 phyllamyricin 具有抑制 HIV-1 的逆转录酶和 DNA 聚合酶 α 的作用[108]。鬼臼毒素类对麻疹和单纯疱疹病毒 I 有抑制作用。



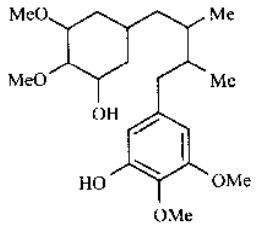
retroiusticidin B



phyllamyricin

三、对心血管系统的作用

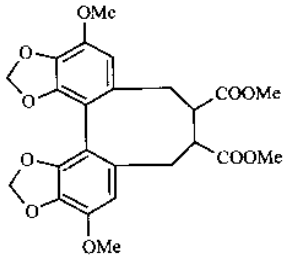
海风藤中木脂体成分对血小板活化因子(PAF)有拮抗活性，其中海风藤酮(kadsurenone)活性最强，浓度为 3.0 μmol/L 时抑制率达 95%；从异型南五味子(*Kadsura heteroclita*)分离得到的多种联苯环辛烯类木脂体也具有 PAF 拮抗活性，其中(+)-gomisin M_1 的 IC_{50} 为 3.0 μmol/L[109]。从华中五味子中获得的 pre-gomisin 也具有 PAF 拮抗作用[110]。其结构式如下：



一些芳基萘的酯和它的杂原子衍生物具有降脂作用，在大鼠实验中，不但可以降低血清胆固醇水平，而且可以提高高密度脂蛋白的水平[111]。不少木脂体还具有抗氧化作用[112]，如芝麻中的多种木脂体有此作用，所以有人推荐芝麻为保健食品。

四、保肝作用

五味子和华中五味子果实中含有的联苯环辛烯类木脂体均有保肝和降低血清谷丙转氨酶(SGPT)作用，如五味子酯甲和五味子丙素。化学结构中的亚甲二氧基可能是重要的活性基团。在化学合成五味子丙素时发现中间体联苯双酯(bifendate)也具有降低转氨酶，改善肝炎症状的作用，临床上曾用于迁延性肝炎的治疗[113]。



五、其他作用

五味子醇甲(schizandrin)具有明显的中枢安定作用，是五味子镇静的主要活性成分。厚朴的镇静和肌松作用也与厚朴酚和厚朴酚等有关。

爵床属植物 *Justicia hayatai* 中的爵床素 A、B 和山荷叶素均有毒鱼作用，其毒性与鱼藤酮(rotenone)相似，而对昆虫和高等动物则毒性很小。

此外，还报道木脂体类具有抗过敏、抗炎、抗菌、杀虫等其他生物活性。

参 考 文 献

[1] 徐任生. 天然产物化学. 北京：科学出版社，1993，710
[2] 姚新生. 天然药物化学. 北京：人民卫生出版社，1994，143
[3] Freudenberg K et al. Tetrahedron，1961，15：115
[4] Gottlieb O R. Fortschr Chem Org Naturstoff，1978，35：1
[5] IUPAC Commission. Pure Appl Chem，1999，71：587
[6] Moss G P. Pure Appl Chem，2000，72：1493
[7] Davin L B et al. Science，1997，275：362
[8] Katayama T et al. Mokuzai，Akkaishi，1997，43：580
[9] Slanina J et al. Planta Med，1997，63：277
[10] Harris R K et al. Cereal Foods World，1993，38：147
[11] One H et al. J Chromatogr B，1995，674：293
[12] Agrawal P K et al. Magn Reson Chem，1994，32：753
[13] 刘嘉森等. 化学学报，1984，42：264
[14] Das B et al. Phytochem，1993，33：1489
[15] Satyanarayana P et al. Tetrahedron，1991，47：8931
[16] Wang H et al. Chin Chem Lett，1993，4：31
[17] Valsaraj R et al. J Nat Prod，1997，60：739
[18] Kerman M R et al. J Nat Prod，1997，60：635；Ward RS，Nat Prod Rep，1999，16：75
[19] Carroll A R et al. Aust J Chem，1994，47：937
[20] Wu A et al. Acta Pharm Sin，1997，32：278
[21] Shibuya H et al. Chem Pharm Bull，1992，40：2639
[22] Estevez-Reyes R et al. J Nat Prod，1993，56：1177
[23] Luo S Q et al. Phytochem，1993，33：193
[24] Kuo Y H et al. J Nat Prod，1997，60：1294
[25] Banerji J et al. Phytochem，1984，23：2323
[26] Inagaki I et al. Chem Pharm Bull，1972，20：2710
[27] Rastrelli L et al. J Nat Prod，2001，64：79
[28] Amer A. J Nat. Prod，1993，56：600
[29] Rossi R et al. Synthesis，1997，10：61
[30] Miyata O et al. Chem Pharm Bull，1996，44：1285
[31] Lee S S et al. J Nat Prod，1996，59：1061
[32] Asano J et al. Phytochem，1996，42：713
[33] Chen C C et al. J Nat Prod，1996，59：1149
[34] Miyazawa M et al. Phytochem，1996，42：531
[35] Huang Y L et al. Planta Med，1992，58：473
[36] Kuo Y H et al. Heterocycles，1993，36：529
[37] 张治针等. 药学学报，1999，34：128
[38] Hattori T et al. J Chem Soc，Perkin Trams I，1995：235
[39] Ogiku T et al. J Org Chem，1995，60：4585
[40] Kobayashi K et al. J Chem Soc Perkin Trans I，1995：3013
[41] Urzua A et al. Phytochem，1993，34：874
[42] Ma Y L et al. Phytochem，1996，41：287
[43] San Feliciano A et al. Phytochem，1992，31：267
[44] Estevez-Braun A et al. J Nat Prod，1995，58：887
[45] Su B N et al. Planta Med，1999，65：558
[46] Liu J S et al. Can J Chem，1981，59：1680
[47] Kanchanapoom T et al. Phytochem，2001，56：369

[48] Gaboury J A et al. J Indian Inst Sci, 1994, 74: 135
[49] Umezawa T et al. Mokuzai Gakkaishi, 1994, 40: 231
[50] Estevez-Reyes R et al. Phytochem, 1992, 31: 2841; Estevez-Reyes R et al. J Nat Prod, 1993, 56: 1177
[51] Erdtman H et al. Acta Chem Scand, 1947, 1: 71
[52] Gireger H et al. Tetrahedron, 1980, 36: 3551
[53] Miyazawa M et al. Phytochem, 1994, 35: 611
[54] Yahara S et al. Phytochem, 1994, 37: 1755
[55] Yang L et al. Indian J Chem Sect B, 1995, 34: 975
[56] 何明等. 药学学报, 2001, 36(4): 278
[57] Maruyama J et al. Heterocycles, 1994, 37: 839
[58] Yoshida S et al. Tetrahedron Lett, 1995, 36: 1455
[59] Adhikaki S et al. Tetrahedron, 1993, 49: 8415
[60] Chen D F et al. Phytochem, 1992, 31: 629
[61] Yang X W et al. Chem Pharm Bull, 1992, 40: 1510
[62] Liu J S et al. Phytochem, 1992, 31: 957
[63] Liu J S et al. Phytochem, 1995, 38: 1009
[64] Carroll A R et al. Aust J Chem, 1994, 47: 937
[65] Planchenault D et al. Tetrahedron 1995, 51: 1395
[66] Carroll A R et al. Aust J Chem 1994, 47: 1579
[67] Yoshikawa K et al. Chem Pharm Bull, 1995, 43: 578
[68] Kouno I et al. Phytochem, 1993, 32: 1573
[69] Kuo Y H et al. J Nat Prod, 1996, 59: 625
[70] Sheen W S et al. Phytochem, 1994, 36: 213
[71] 王金辉等. 中草药, 2001, 32: 15
[72] Tsai I L et al. Planta Med, 2000, 66: 403
[73] Zhang S X et al. J Nat Prod, 1995, 58: 540
[74] Sehlapelo B M et al. Phytochem, 1993, 32: 1352
[75] Fukuyama Y et al. Chem Pharm Bull, 1992, 40: 252
[76] Dias S M C et al. Phytochem, 1986, 25: 213
[77] Fang J M et al. Phytochem, 1992, 31: 3659
[78] Mitsunaga K et al. Natural Medicines, 1996, 50: 325
[79] Micard V et al. Phytochem, 1997, 44: 1365
[80] Agharahimi M R et al. J Org Chem, 1995, 60: 1856
[81] Kouno I et al. Chem Pharm Bull, 1994, 42: 112
[82] Sy L K et al. Phytochem, 1996, 43: 1417, 1997, 45: 211
[83] Tanaka T et al. J Nat Prod, 1996, 59: 843; Chem Pharm Bull, 1997, 45: 1596
[84] Yoshikawa K et al. J Nat Prod, 1997, 60: 511
[85] Hashimoto Y et al. Mokuzai Gakkaishi, 1993, 2: 255
[86] Wang H Y et al. Acta Pharm Sinica, 1993, 28: 911
[87] Fukuyama Y et al. Tetrahedron Lett, 1993, 34: 1051
[88] Braca A et al. J Nat Prod, 1999, 62: 1371
[89] Kouno I et al. Chem Pharm Bull, 1994, 42: 112
[90] Yoshikawa K et al. Phytochem, 1995, 39: 659
[91] Sakakibara I et al. Phytochem, 1995, 38: 1003
[92] Tsai I L et al. Phytochem, 1996, 43: 1261
[93] Chang W L et al. J Nat Prod, 1997, 60: 76
[94] Sheen W S et al. Phytochem, 1994, 36: 213
[95] Yoshikawa K et al. J Nat Prod, 1997, 60: 511
[96] Afiti M S A et al. Phytochem, 1993, 34: 839
[97] Venkatraman G et al. Tetrahedron Lett, 1996, 37: 2643
[98] Yamamoto A et al. Phytochem, 1993, 32: 421
[99] Arslanian R L et al. J Nat Prod, 1995, 58: 583
[100] Das P C et al. Indian J Chem Sec B, 1992, 31: 342

[101] Wang E C et al. Heterocycles, 1996, 43: 969
[102] Pelle Monach F et al. Phytochem, 1996, 43: 1097
[103] Carroll A R et al. Austr J Chem, 1991, 44: 1705
[104] Cho S J et al. J Med Chem, 1996, 39: 1396
[105] Hirano T et al. Life Sci, 1994, 55: 1061
[106] Kashiwada Y et al. J Nat Prod, 1995, 58: 292
[107] Chen D F et al. Bioorg Med Chem, 1997, 5: 1715
[108] Liu KCSC et al. Med Chem Res, 1997, 7: 168
[109] Han G Q et al. J Chin Pharm Sci, 1992, 1(1): 20
[110] Lee I S et al. Arch Pharm Res, 1997, 20: 633
[111] Kuroda T et al. Chem Pharm Bull, 1997, 45: 678
[112] Nitao J K et al. J Chem Ecol, 1992, 18: 1661
[113] 刘耕陶. 药学学报, 1983, 7: 14

（胡昌奇）

第十七章　碳环芳香族酸酚性化合物

酚性物质是芳香族化合物芳香环上存在羟基，而这种羟基一般具有不同强度的酸性，自然界存在的碳环芳香族化合物包括苯、萘、蒽、菲等，它们的环上有一个或多个取代的羟基或烷氧基，或者存在羧基或酯的形式，如果这些化合物氧化则形成 1,2 或 1,4-二酮，此产物具有较深的颜色称作醌。

按化合物的化学分类，天然界还存在很多氧杂环化合物，诸如呋喃、吡喃、香豆素、色原酮、黄酮等，它们的化学性质与碳环酸酚性化合物有很多相似处。本章则主要叙述碳环芳香族酸酚性化合物，而对氧环化合物、醌型化合物和木脂体则于其他章节介绍。

天然酚性化合物的研究始于 20 世纪，是天然有机化合物中最早发展的一类。很多天然芳香化合物的结构与性质在 Kekúle 确定芳香环结构以后就很快得到解决，因此从学科来说是比较老的。但是近 20 年来酚性化合物中仍能发现一些结构类型比较新奇和生理作用引人注目的工作，因而可以说酚性化合物对天然产物化学来说，既是老的也是新的领域[1]。

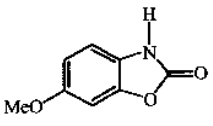
第一节　结 构 类 型

关于天然碳环酚性化合物的生源主要有两种观点：一种认为是乙酸-丙二酸途径；另一种认为先由糖类形成莽草酸，再经芳香化而形成。另外，有些则系由萜类芳香化形成，如麝香草酚（thymol）类。有些酚性化合物与萜类结合，诸如大麻酚类（cannabinol），也有一些酚性化合物，因羟基间脱水而形成氧环。诸如地衣酚类（lichenoide），有些则成呋喃环或吡喃环，这些化合物在化学分类上具有双重性。

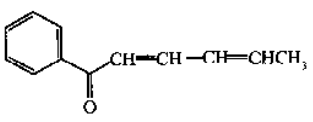
碳环芳香族酸酚性化合物参照一般专著的分类方法[2]，分别介绍如下：

一、苯及苯酚类衍生物

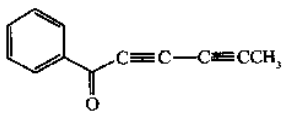
苯环芳香族的醇、醛、酮、酸、醚、酯类的衍生物普遍存在于天然界，其中有些并以苷的形式结合。这里列举几种结构略为复杂的化合物。它们当中有从薏苡仁（*Coix lacryma*）中分离得到的薏苡酰胺（coixol，**1**）；茵陈（*Artemisia capillaria*）中的茵陈二烯酮（capillone，**2**），茵陈二炔酮（capillin，**3**）；银杏（*Ginkgo biloba*）中的银杏酸（ginkgolic acid，**4**）；腰果（*Anacardium occidentale*）中的腰果酸（anacardic acid Ⅲ，**5**），anacardic acid Ⅳ（**6**）；*Narcissus* sp. 中的 piscidic acid（**7**）；*Altermaria zinniar* 中的 zinniol（**8**）和 larprapic acid（**9**）；日本厚朴（*Magnolia obovata*）中的厚朴酚（magnonol，**10**）；*Lindera piperiarpa* 中的乌药酮（linderone，**11**）和荚蒾（*Viburnum dilatatum*）中的 **12**。



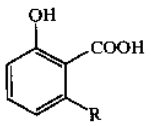
1



2



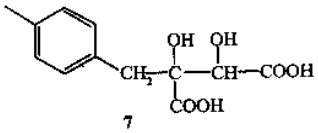
3



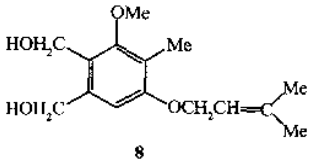
4 R=$(CH_2)_7CH{=}CH(CH_2)_5CH_3$

5 R=$(CH_2)_7CH{=}CHCH_2CH{=}CH(CH_2)_2CH_3$

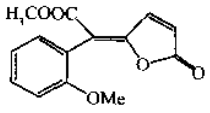
6 R=$(CH_2)_7CH{=}CHCH_2CH{=}CHCH_2CH{=}CH_2$



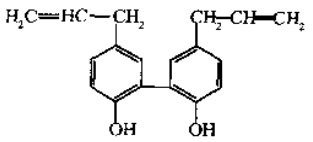
7



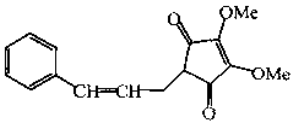
8



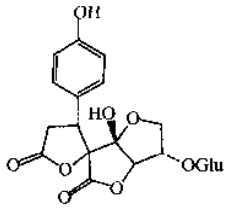
9



10



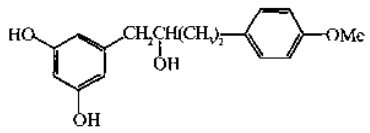
11



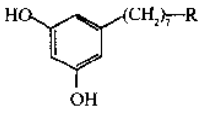
12

二、苯环二元酚类

一般邻苯二酚、间苯二酚及对苯二酚(氢醌)类化合物也广泛存在于自然界。像仙鹤草(*Agrimonia pilosa*)中的鹤草醇(agrimonol,**13**);腰果中的 cardol I (**14**)和 cardol II (**15**);*Grifola conffuence* 中的 grifolin,(**16**);漆树(*Rhus vernicifera*)中的(urushiol,**17**);番椒(*Capsicum annuum*)中的辣椒素(capsaicine, **18**);姜(*Zingiber officinale*)中的姜酚(gingerol,**19**);姜黄(*Curcuma longa*)中的姜黄素(curcumine, **20**);*Piper futokadsura*中的尖胡椒酯酮(futoenone,**21** 和 futoquinol,**22**);日本厚朴中 honokiol(**23**);咖啡(*Coffea arabica*)中的氯原酸(chlorogenic acid,**24**);*Fagopyrum cymosum* 中的(1-*p*-coumaryl-6-feruloyl-glucose,**25**)及香坡垒(*Hopea oborata*)中的香坡垒酚(hopeaphenol,**26**)等。

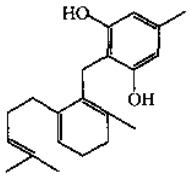


13

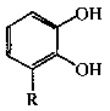


14 R=$(CH_2CH{=}CH_2)_2CH_2CH_3$

15 R=$(CH_2CH{=}CH_2)_2CH{=}CH_2$



16

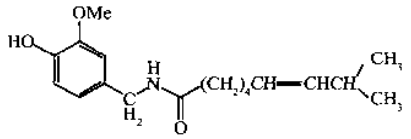


17 R=$-(CH_2)_{14}CH_3$

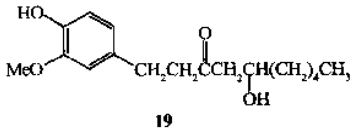
$(CH_2)_7CH{=}CH(CH_2)_5CH_3$

$(CH_2)_7CH{=}CHCH_2CH{=}CH(CH_2)_3CH_3$

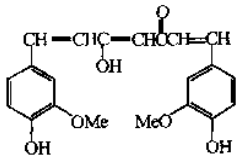
$(CH_2)_7CH{=}CHCH_2CH{=}CH{-}CH_2CH{=}CH_2$



18



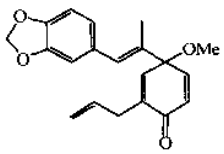
19



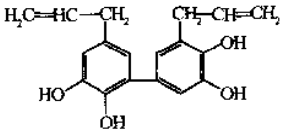
20



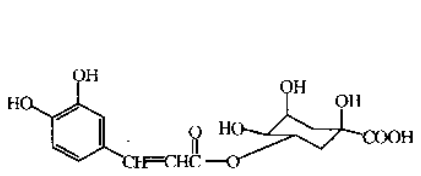
21



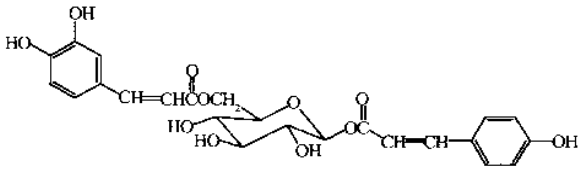
22



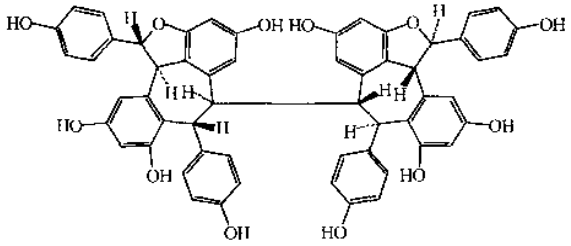
23



24



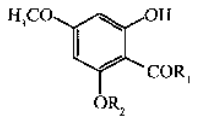
25



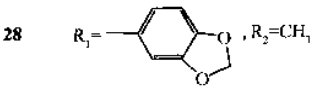
26

三、间苯三酚类

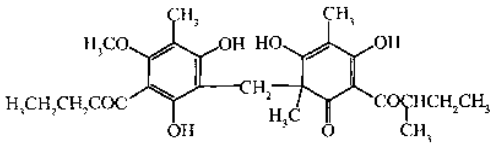
间苯三酚类化合物常存在于蔷薇科和鳞毛蕨属植物中，它们一般具有较强的生物活性。其中像 *Nectandra coto* 中的cotoin(**27**)和 protocotoin(**28**)；仙鹤草中的鹤草酚(agrimophol，**29**)和仙鹤草酚 C(agrimol C，**32**)；须松萝(*Usnea barbata*)中的松萝酸(usnic acid，**30**)；菲岛楸(*Mallotus philippinensis*)中的楸毒素(rottlerin，**31**)；香桃木(*Myrtus communis*)中的香桃木酮(myrtucommulon B，**33**)，香桃木酮(myrtucommulon A，**34**)。



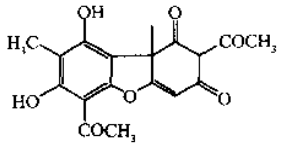
27　R_1=C_6H_5，R_2=H



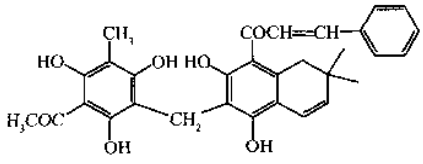
28　R_1=　，R_2=CH_3



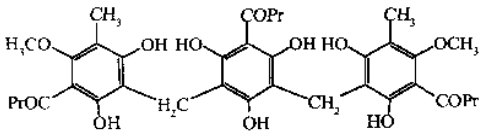
29



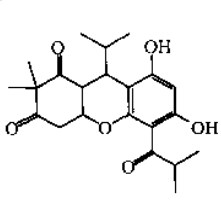
30



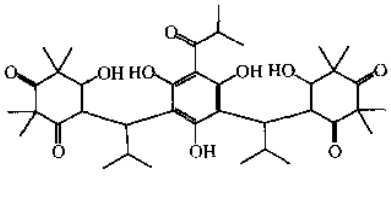
31



32



33

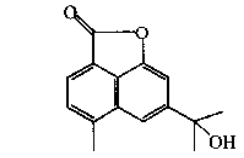


34

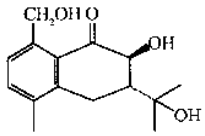
四、萘环衍生物

萘环衍生物类化合物中有 *Emmotum nitens* 中的emmotin D(**35**)和 emmotin A(**36**)；*Verticillium lamel-*

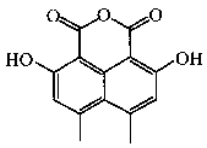
licola 中的 lamellicolic anhydride (**37**)；柔毛柿(*Diospyros mollis*)中的柿酚(diospyrol,**38**)；树棉(*Gossypium arboreum*)中的棉酚(gossypol,**39**)；lachnanthoside (**41**)；*Xiphidium caeruleum* 中的 xiphidone (**42**)；*Xerocomus badius* 中的 badion A (**43**)等。



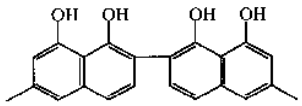
35



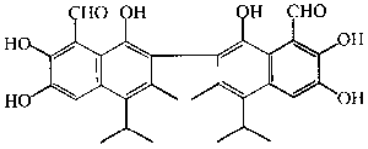
36



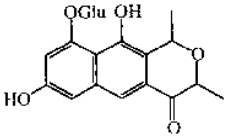
37



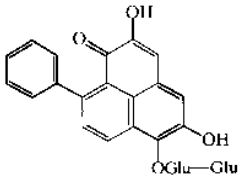
38



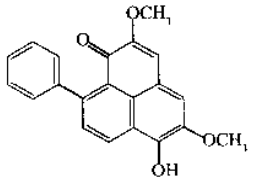
39



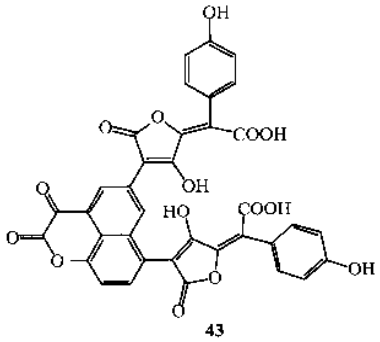
40



41



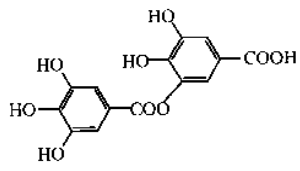
42



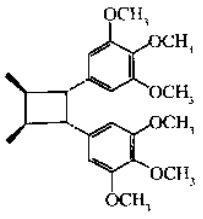
43

五、连苯三酚类

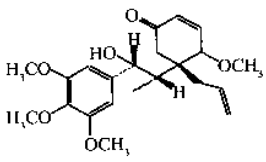
连苯三酚类物质还包括各种单宁类化合物。其中像双没食子酸(*m*-digallic acid,**44**)；*Heterotropa takaoi* 中的 heterotropan (**45**)；*Aniba magaphylla* 中的 magaphone (**46**)；斑皮按(*Eucalyptus maculata*)中的鞣花酸(ellagic acid,**47**)；石榴(*Punica granatum*)中的 flavogallol (**48**)；*Parmelia pseudojatiscens* 中的 hiascininic acid (**49**)等。



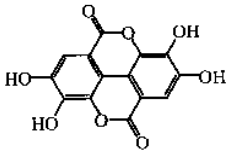
44



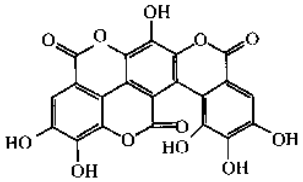
45



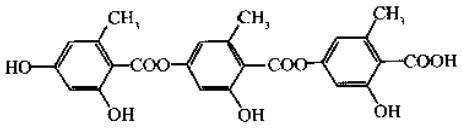
46



47



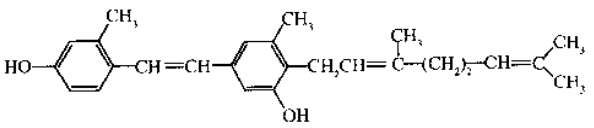
48



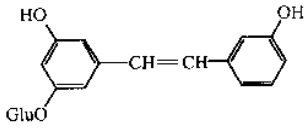
49

六、二苯烯类及其有关化合物

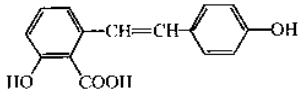
二苯烯类化合物中有 *Chlorophora excelsa* 中的 chlorophorin (**50**)；土大黄(*Rheum rhaponticum*)中的土大黄苷 rhapoticin (**51**)；绣球花(*Hydrangea macrophylla*)中的 hydrangeaic acid (**52**)；藜芦(*Veratrum album*)中的 hydroxyresveratrol (**53**)；棉叶麻风树(*Jatropha gossypifolia*)中的 gadain (**54**)；*Virola elongata* 中的 dihydrosesartemin (**55**)；melasequirin B (**56**)及 melasequirin A (**57**)等。



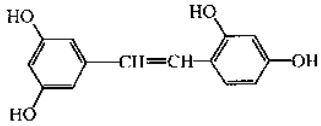
50



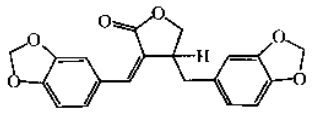
51



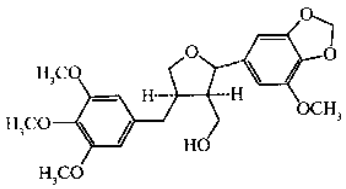
52



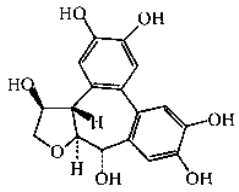
53



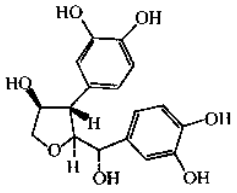
54



55



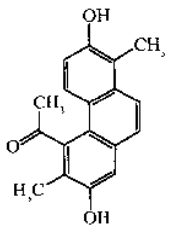
56



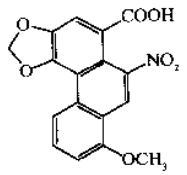
57

七、蒽菲类衍生物

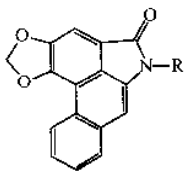
蒽菲类衍生物类化合物主要来源于一些马兜铃属植物，如青木香(*Aristolochia debilis*)中的马兜铃酸(aristolochic acid,**59**)，马兜铃内酰胺(aristololactam,**60**)及其苷 aristololactam-*N*-β-D-glucoside (**61**)；硃砂莲(*A. tuberosa*)中的硃砂莲素(tuberosinone,**62**)和硃砂莲苷(tuberosinone-*N*-β-D-glucoside,**63**)。另外，还有针毛灶灯心草(*Juncus roemerianus*)中的灯心草酮(juncumone,**58**)。



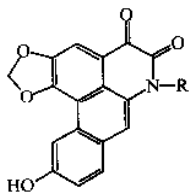
58



59



60 R=H
61 R=Glu

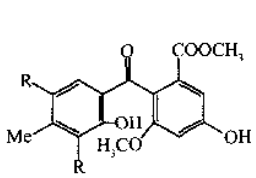


62 R=H
63 R=Glu

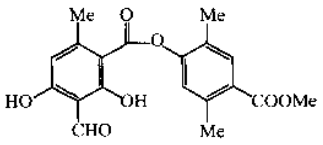
八、地衣酚类

地衣酚类化合物中有类生卵孢菌(*Oospora sulphurea-ochracea*)中的 solochrin (**64**)；*Penicillium estinogenum* 中的 dihydrogeodin (**65**)；横衣(*Xanthoria parietina*)中的 atranolin (**66**)；染料衣(*Roccella tintoria*)中的 diffractaic acid (**67**)；栎扁枝衣(*Evernia prunastri*)中的扁枝衣酸(evernic acid,**68**)；东方珊瑚树(*Stereocaulon paschale*)中的 lobaric acid (**69**)；肺衣(*Lobaria pulmonaria*)中的 stictic acid (**70**)；苦鸡皮衣(*Pertusaria*

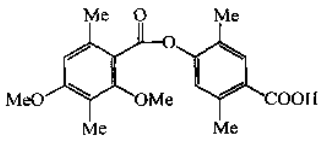
amara)中的 picrolichenic acid (**71**)及 *Buellia canescens* 中的 diploicin (**72**)等。



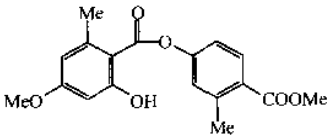
64 R=H
65 R=Cl



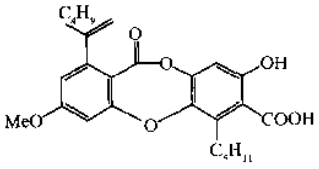
66



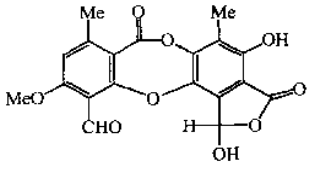
67



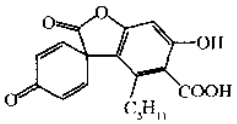
68



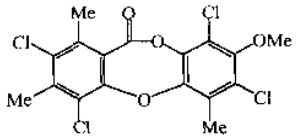
69



70



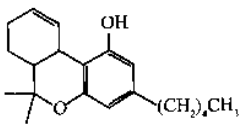
71



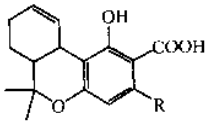
72

九、大麻酚类

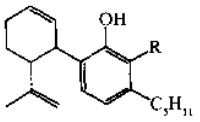
大麻酚类化合物存在于大麻(*Cannabis sativa* var. *indica*)中,有四氢大麻酚(tetrahydro-cannabinol,**73**)、四氢大麻酚酸(tetrahydrocannabinolic acid,**74**)、tetrahydrocannabidivarinic acid (**75**)、cannabidiol (**76**)、cannabidiolic acid (**77**)、cannabigerol (**78**)、cannabigerolic acid (**79**)、cannabichromene (**80**)、cannabichromenic acid (**81**)、cannabicyclol (**82**)等。



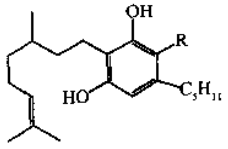
73



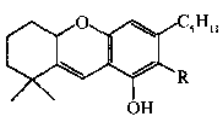
74 R=C_5H_{11}
75 R=C_3H_7



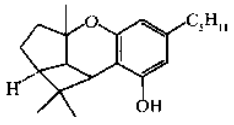
76 R=H
77 R=COOH



78 R=H
79 R=COOH



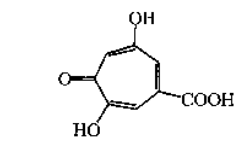
80 R=H
81 R=COOH

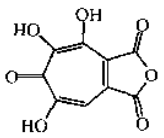


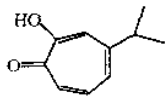
82

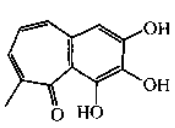
十、七元环类

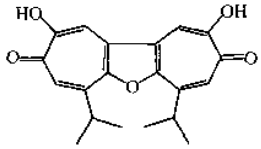
七元环类化合物有 *Penicillium stipitatum* 中的柄状青霉酸(stipitatic acid,**83**),柔毛青霉酸(puberulonic acid,**84**);台湾扁柏(*Chamaecyparis taiwanensis*)中的 kinokitol (**85**);*Dryophanta divisa* 中的 purpurogallin (**86**);犹太桧(*Juniperus utahensis*)中的 utahin (**87**)及 *Sepedonium chrysospermum* 中的 sepedonin (**88**)等。

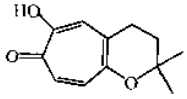

83


84


85

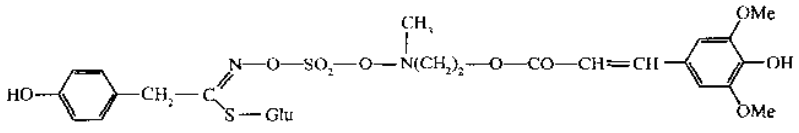

86

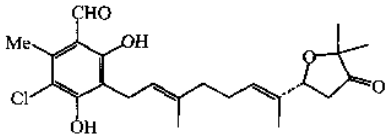

87

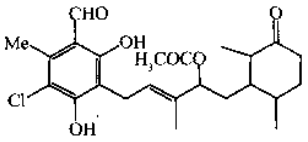

88

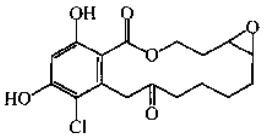
十一、其他复杂类型

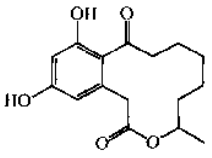
白芥子(*Sinapis alba*)中的白芥子苷(sinabin, **89**); *Ascochyta viciae* 中的 ascofuranol (**90**); *Nectria coccinea* 中的 chloronectrin (**91**); *N. radicicola* 中的 radicicol (**92**); *Curvularia* sp. 中的 curvalarin (**93**); 香杨梅(*Myrica gale*)中的 hydroxygaleon (**94**), porson (**95**), myricanol (**96**); *Grevillea robusta* 中的 robustol (**97**); *Helminthosporium siccans* 中的 presiccanochromene A-5(及其酸)**98**, siccanochromene A-6(及其酸)**99**, siccanin (**100**); *Penicillium brevi-compactum* 中的 penicillum (**101**)及 *Halichondria panicea* 中的 penicein B-3 (**102**)等。

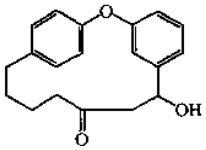

89

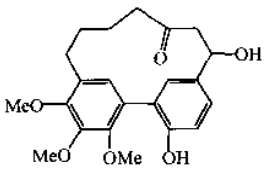

90

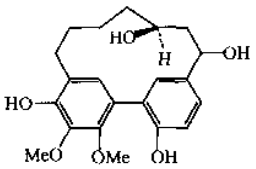

91

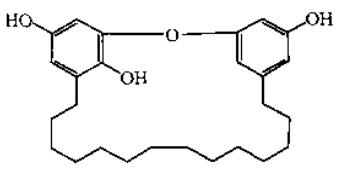

92

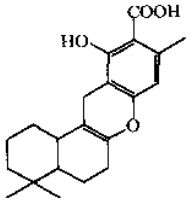

93

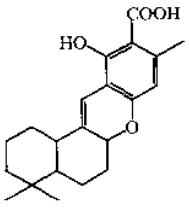

94

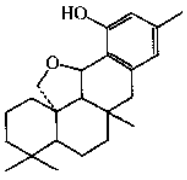

95

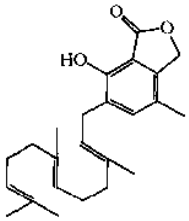

96

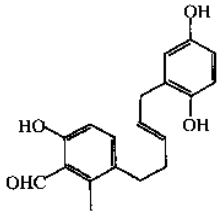

97


98


99


100


101


102

第二节 生理作用概述

酚性化合物种类繁多，其中很多有重要生理作用，一般简单酚性化合物诸如愈创木酚、丁香酚等都有不同强度的抗菌、消毒作用，麝香草酚抗菌作用较强，早期并曾用于驱肠虫。

很多多聚间苯三酚化合物的载有植物，早期曾用于临床作为驱蛔虫、绦虫药物，如鳞毛蕨属植物（*Dryopteris*）绵马和贯众，大戟科的菲岛萩（*Manolus philippinensis*），蔷薇科的苦苏（*Hagenia abyssinica*），并曾于国外药典收载。菲岛萩的有效成分萩毒素**31** 有驱绦虫作用，并有较强的细胞毒作用。苦苏的有效成分 α 和 β-苦苏素（α-kosine **112**，β-kosine **113**）和原苦苏素（protokosine，**114**）均有驱肠虫作用，但由于均有强烈的致呕吐、腹泻不良反应，现已很少应用。我国曾从民间使用越冬仙鹤草根芽治疗绦虫病的经验，从中分离得到有效成分鹤草酚 **29**，临床治绦虫病，有效率基本上可达100%，并且不需加服泻药。从仙鹤草的全草中除可分离得到少量鹤草酚外，并分离得到仙鹤草酚 A、B、C、D、E（**32**）。它们均有抗疟作用，但由于有强烈的致腹泻、呕吐作用，临床未曾使用。仙鹤草酚类并有细胞毒作用。

柿酚（diospyrol，**38**）是从柔毛柿中分离得到的酚性化合物。动物实验对钩虫病、绦虫病有效。棉酚（gossypol，**39**）除有抗生育作用外，动物试验对单纯疱疹病毒和淋巴白血病有效。

单宁类酚性化合物一般均有抗菌作用。很多并有细胞毒和抗肿瘤作用。诸如鞣花酸 **47**，除体外试验能抑制肿瘤细胞外，S-180 等动物试验也有效。

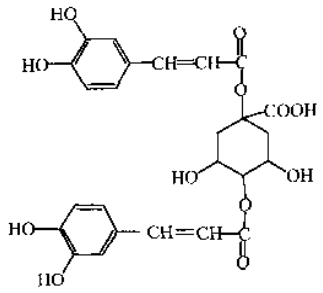
苦杏仁苷一般不仅具有祛痰作用，20 世纪 50 年代在美国曾作为维生素 B_{17} 而用于治疗肿瘤，后经正式组织临床试验证明无效。

硝基菲酸类如马兜铃酸（**59**）具有细胞毒作用和抗生育作用，低剂量能增强人和动物吞噬细胞的吞噬作用，在欧洲曾作为促进免疫功能药物而批准销售。但较大剂量有致癌作用而停用，近年又发现硝基菲酸类具有肾脏毒性。西方发达国家对含有马兜铃酸类的中药及复方均停止进口。

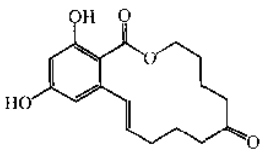
松萝酸（**30**）为从地衣类中分离得到的广谱抗菌物质，对结核杆菌也有较强的抑制作用。临床试用对链霉素有协同作用，但由于毒性较大，临床未正式使用。

姜黄色素（curcumine，**20**）得自郁金香的黄色素，具有局部和全身抗炎作用。cynarine（**103**）曾在欧洲生产作为利胆药，zearalenone（**104**）具有促进新陈代谢方面的作用。

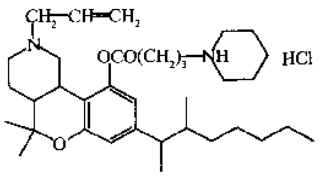
大麻酚类具有较强的中枢神经作用，主要有镇静、催眠、镇痛，特别是致幻方面的生理作用，其中以 3-位双键的且具有二甲基庚烷（DMH）侧链的四氢大麻酚类最强。长期使用这类化合物会产生成瘾性，因此作为麻醉品类应严格控制其使用。国外大量合成其类似物，总结其构效关系，以期望找到作用强、水溶性、无成瘾性的药物，其中水溶性衍生物**105** 受到相当重视[3,4]。



103



104



105

第三节 结构测定举例

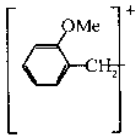
天然芳香族化合物的结构测定，20 世纪 50 年代以前主要应用化学反应，20 世纪 70 年代则完全应用光

谱方法。由于芳香族化合物质谱分子离子峰比较稳定，一般碎片化过程也比较规律，芳香质子的核磁共振信号、化学位移值比较规律，对简单化合物则均可用近似计算核对。偶合常数也主要从峰型及偶合常数解析对位^5J，间位^4J，邻位^3J，一般邻位偶合裂分常数为6～9 Hz，间位裂分常数为0.9～3.0 Hz，对位裂分常数为0～1 Hz，可以此推定取代基的位置。

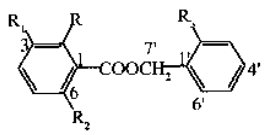
一、一枝黄花中的苯酚型化合物

从抗菌中药一枝黄花(*Solidago decurrens*)中分离得到一系列化合物1～8(**106-1**、**106-2**、**106-3**、**106-4**、**106-5**、**107-6**、**107-7**、**107-8**)[5]。

化合物4与5的红外光谱类似，均有酯碳基及芳香环吸收。质谱分子离子峰差30，即差一个甲氧基，从质谱碎片峰分析，二者有共同的醇部分121$[C_8H_4O]^+$，即

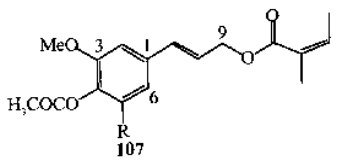


而羧基部分分别为165$[C_9H_9O_3]^+$和195$[C_{10}H_{11}O_4]^+$，即苯甲酸部分具有两个及三个甲氧基取代，而此两碎片中甲氧基的位置则不难通过芳香质子的解析决定。化合物5有四个甲氧基信号3.77、3.79、3.81、3.84，另有5.45(2H)系邻接于氧原子的CH_2，而芳香质子具有一组AB型6.58和6.87，和一组苯环邻接四氢的共振信号6.88brd、7.28ddd、6.94brdd、7.47dd。前者按苯环化学位移的规律推定为2,3,6-三甲氧基苯甲酰基，后者则为C 2甲氧基取代，因而推定结构为**106-5**，而化合物4系于酰基芳香环上比5多一个芳香质子，即6.55d(2H)和7.25m。因而推定为2,6-二甲氧基苯甲酰，即为**106-4**式所示。



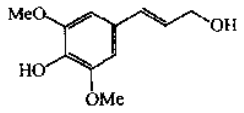
106

	1	2	3	4	5
R	OH	OMe	OMe	OMe	OMe
R_1	H	H	OMe	H	OMe
R_2	OMe	OMe	OMe	OMe	OMe
R_3	OMe	H	H	OMe	OMe



107

107-6 R=H
107-7 R=OMe



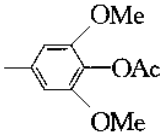
107-8

^{1}H-NMR	**4**	**5**		**6**	**7**	**8**
H-3	6.55 d	—	H-2		6.65 s	6.63 s
H-4	7.25 m	6.87 d	H-5	7.00 m	—	—
H-5	6.55 d	6.58 d	H-6		6.65 s	6.63 s
H-3′	6.88 brd	6.88 brd	H-7	6.63 brd	6.61 brd	6.52 brd
H-4′	7.28 m	7.28 ddd	H-8	6.26 dt	6.27 dt	6.23 dt
H-5′	6.94 ddd	6.94 brdd	H-9	4.72 dd(2H)	4.73 dd(2H)	4.32 brd(2H)
H-6′	7.47 dd	7.47 dd	OCOR	6.24 brq	6.24 brq	—
H-7′	5.45 s(2H)	5.45 s(2H)		2.06 brs(6H)	2.06 brs(6H)	—
			OCH_3	3.86 s(3H)	3.86 s(6H)	3.91 s(6H)
OCH_3	3.81 s(3H)	3.84 s(3H)				
	3.77 s(3H)	3.81 s(3H)	O Ac	2.11 s(3H)	2.11 s(3H)	

3.77 s(3H) 3.79 s(3H)
3.77 s(3H)

J(Hz):4,5=3′,4′=4′,5′=5′,6′=8 J(Hz):7,8=16;8,9=7.5
3′,5′=4′,6′=2

	4	5	6	7
MS	302 (14%)	332 (83%)	304.1311 (7%)	334.1416 (10%)
	$C_{17}H_{18}O_5$	$C_{18}H_{20}O_5$	$C_{17}H_{22}O_5$	$C_{18}H_{22}O_5$
	165 (100%)	195 (88%)	222 (14%)	252 (25%)
	$[C_9H_9O_5]^+$	$[C_{10}H_{11}O_4]^+$	$[C_{11}H_{14}O_4]^+$	$[C_{13}H_{16}O_5]^+$
	121 (54%)	137 (16%)	83 (100%)	83 (100%)
	$[C_8H_9O]^+$	$[C_8H_9O_2]^+$	$[C_5H_7O]^+$	$[C_5H_7O]^+$
		121 (100%)		
		$[C_8H_9O]^+$		
IR	1725 (COOR)	1730 (COOR)	1735 (COOR)	1738 (COOR)
	1600, 1495 Ar	1600, 1495 Ar	1645 (双键)	1645 (双键)
			1590, 1500 Ar	1596, 1490 Ar

化合物 **6** 和 **7** 的红外光谱均有酯碳基,双键和芳香环吸收,质谱二者相差一个甲氧基,碎片峰均有(83) $[C_5H_7O]^+$,示为当归酸(angelic acid)或巴豆酸(tiglic acid)所成的酯^{1}H-NMR具有 6.24brq 和 2.06brs(6H)为当归酸上的烯质子和甲基质子。有一组 6.63brd 和 6.26dt,裂分常数为 16,为一对反式结合的烯质子,另一组 4.72dd(2H)是邻接于氧 CH_2 的质子。此外,化合物 **7** 具有一个乙酰基 2.11s(3H),两个甲氧基 3.86s (6H)和两个 6.65s 的芳香质子。此二芳香质子为等价,因而推定化合物 **7** 有 

的部分结构,因而推定其结构式为**107-7**。化合物 **6**,则于苯环上有一个乙酰基 2.11s(3H)和一个甲氧基 3.86s(3H)。三个芳香质子重叠于 δ 7.00 左右,推定其化学结构为**107-6**。化合物 **7** 经碱水解,得化合物 **8**,经^{1}H-NMR解析,是 3,5-二甲氧基-4-羟基月桂醇**107-8**。

二、石胡荽中的麝香草酚类化合物[6]

麝香草酚类化合物也极易通过光谱解析推定结构。从民间草药石胡荽(*Centipeda minima*)中分离得到三种麝香草酚类化合物 **1**~**3**。

		1	2	3
MS	m/z	338 (5%)	(CI) 353 (42%)	320 (2%)
		$C_{18}H_{26}O_6$	$C_{19}H_{28}O_6$	$C_{18}H_{24}O_5$
		237 (32%)	335 (100%)	219 (12%)
		$[C_{18}H_{17}O_4]^+$	$[C_{19}H_{26}O_5]^+$	$[C_{13}H_{15}O_5]^+$
		71 (100%)		
		$[C_4H_7O]^+$	181 (31%)	71 (100%)
			145 (30%)	$[C_4H_7O]^+$

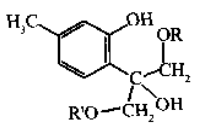
IR $\nu_{max}^{KBr}cm^{-1}$	3380 (OH)	3350 (OH)	
	1750 1725 (COOR)	1740 1715 (COOR)	1770 1750 (COOR)
^{1}H-NMR ($CDCl_3$)	**1**	**2**	**3**
H-2	6.70d	6.69d	6.87d
H-5	6.89d	6.89d	7.05d
H-6	6.65dd	6.64d	7.35dd
H-7	2.27s (3H)	2.26s (3H)	2.35s (3H)
H-9	4.67d (2H)	4.47d,4.44d	2.80d,4.57d
H-10	4.42d (2H)	4.43d,4.42d	3.03d,4.19d
OCOR	1.14d (12H)	2.38tq	1.12d (6H)
	2.56qq	1.62ddq	1.10d (6H)
		1.43ddq	2.52m
		0.84t (3H)	2.84m
		1.11d (3H)	
		2.55q	
		1.14d (6H)	

J(Hz):2,6=1; 5,6=8; 9,9′=10;10′=12
Oi-Bu:2′,3′=7; OmeBu:2′,4′=3′,5′=7

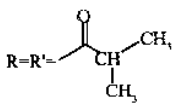
化合物 **1**、**2**、**3** 三者的芳香质子及一个芳香环甲基的共振信号完全相同，从其裂分情况判断应属于 3,5,6-三个质子，即苯环 1,3,4-三取代。化合物 **1** 具有 4.47d、4.42d 两组四个质子，可知其化学位移属于邻接于氧的原子，为两组等价的 CH_2。另外，分子中有两个等价的甲基质子 CO—CH $(CH_3)_2$，其化学位移为 1.14d。另有 CH 质子化学位移 2.56qq，这与质谱有 71$[C_4H_7O]^+$ 的碎片峰一致，是为异丁酰 Oi-Bu 侧链，因此推定的结构为**108-1**。

化合物 **2** 的结构，可从其质谱与^{1}H-NMR 与 1 进行比较，由于 2 的相对分子质量比 1 大 14，系多一个 CH_2，它的^{1}H-NMR谱具有 4.47d、4.40d、4.43d、4.42d 四个邻接于氧的质子。此两组 CH_2 在 400MHz 核磁谱显示化学位移值不同，均为不等价，而酰基质子除有 1.14d(6H)，2.55q，即异丁酰侧链质子外，另有 2.38tq、1.62ddq、1.43ddq、0.83t(3H)、1.11d(3H)五组质子，为 2-甲基-丁酰基侧链，因而推定其结构为 **108-2**。

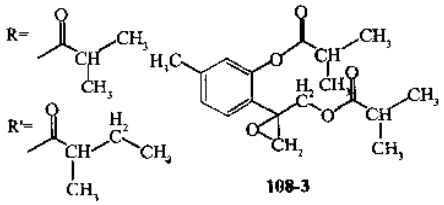
化合物 **3** 的质谱分子离子峰比 1 少 18，红外光谱也没有羟基吸收。其^{1}H-NMR芳香质子与 1 和 2 相似，但质子均向低场转移，而 H-9 和 H-10 的质子一组为 4.57d,4.19d 与化合物**1** 和 **2** 相似，而另一组 2.80d 与 3.03d，处于较高场，系接于环氧的质子，推定化合物**3** 的结构为 **108-3**。化合物 **3** 若于酸中回流，则环氧开裂，分子内重排而能生成化合物 **1** [7]。



108-1



108-2

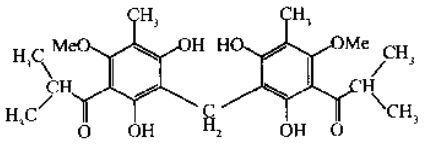


108-3

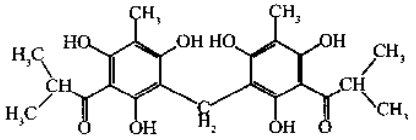
三、苦苏和仙鹤草中的多聚间苯三酚类

苦苏是蔷薇科植物，学名 *Hagenia abyssinica*，是自古以来重要的驱绦虫和蛔虫的药物。其花中含有多

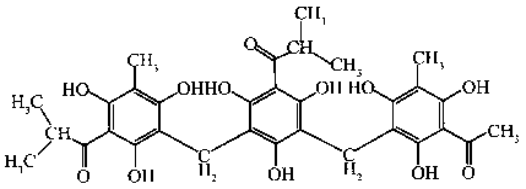
种驱虫有效成分，它们均为多聚间苯三酚型化合物。早期的分离方法系将苦苏的花以乙醚抽提，用 MgO 或 $Ba(OH)_2$ 吸着处理，使间苯三酚类化合物结合成盐。称作镁苦苏素（Mg-kosine）和钡苦苏素（Ba-kosine），于酸中即能回复成原型。再经层析分离而得 α-苦苏素（α-kosine，**112**）、β-苦苏素（β-kosinie，**113**）和原苦苏素（protokosine，**114**）[10,11]，其后发现苦苏中的间苯三酚类衍生物种类极多，由于结构相近，分离纯化均较困难。当时从中分离得到 k-1、k-2、k-3、k-4 等[12]，均为三聚间苯三酚类的混合物。结构与仙鹤草中的间苯三酚类衍生物相似。



112

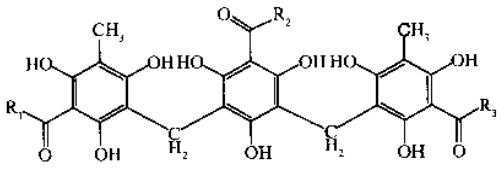


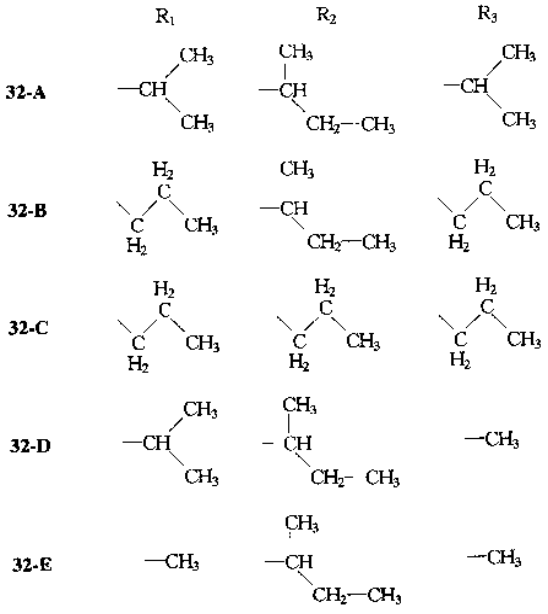
113



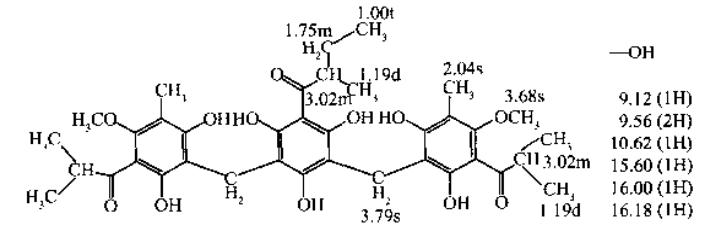
114

仙鹤草（*Agrimonia pilosa*）也是蔷薇科植物，是我国的常用中药，主要用于止血，也有用驱肠虫。东北民间用其越冬根芽驱绦虫。其驱绦虫有效成分为鹤草酚（**29**）。仙鹤草全草的醇浸膏，对鼠疟原虫（*Plasmodium berghai*）有较好的抑制作用。其抗疟有效成分为仙鹤草酚 A、B、C、D、E（**32-A**、**32-B**、**32-C**、**32-D**、**32-E**）。

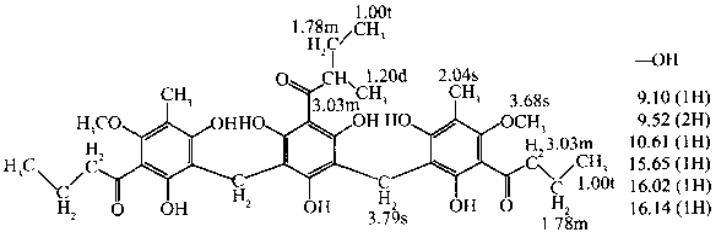




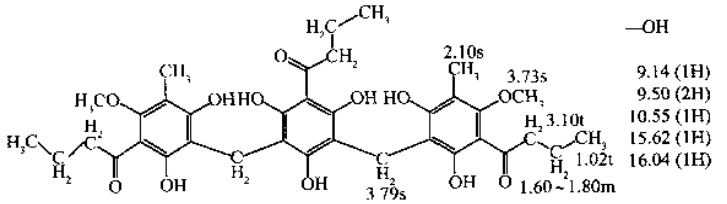
本系列化合物结构的推定主要依靠质谱和^{1}H-NMR 的解析。仙鹤草酚-A:MS 682,M^+ $C_{37}H_{46}O_{12}$;仙鹤草酚-B:MS 682,M^+ $C_{37}H_{46}O_{12}$;仙鹤草酚-C:MS 668,M^+ $C_{36}H_{44}O_{12}$;仙鹤草酚-D:MS 654,M^+ $C_{35}H_{42}O_{12}$;仙鹤草酚-E:MS 626,M^+ $C_{33}H_{38}O_{12}$。由于本类型化合物裂解规律首先发生于酮基侧链有苯环间 CH_2 连接处。因此质谱能明显地分出单分子(250 以下)、双缩聚(350～450)、三缩聚(600～700)部分,并可从碎片峰质量得知此三聚体中三个间苯三酚衍生物各别质量和元素组成。由于间苯三酚的结构中元素组成的主要差别往往在于酰基侧链,因而也能从质谱的碎片峰得知酰基侧链的元素组成。在多聚间苯三酚类中,常见的酰基为乙酰基(简写 A),丙酰基(P),正丁酰基(*n*-Bu),异丁酰基(*i*-Bu),异戊酰基(*i*-val),2-甲基丁酰基(2-Me-B)等,这些酰基的鉴定都不难通过^{1}H-NMR 的解析而解决。



32-A

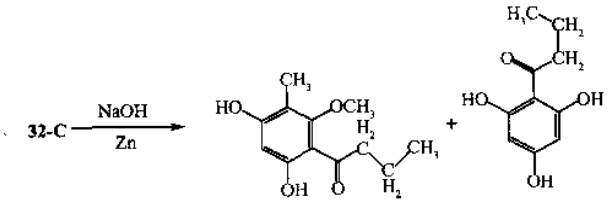


32-B

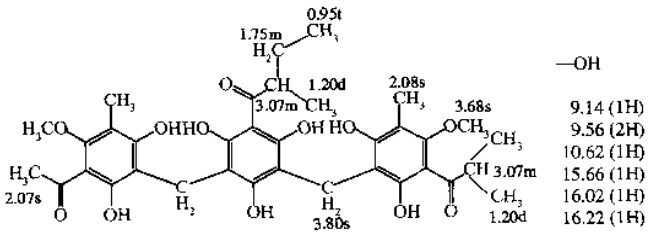


32-C

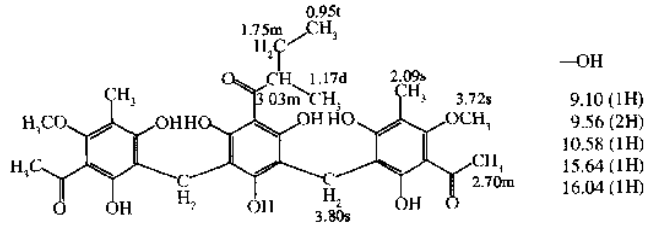
测定本类型化合物结构的化学方法,主要用还原性碱分解,以仙鹤草酚-C 为例,仙鹤草酚-C 经锌粉还原碱分解收得伪绵马酚(4-aspidinol,**115**)和 4,6-二羟基-2-甲氧基-3-甲基丁酰苯(**116**),分别通过与标准品比较而检定。



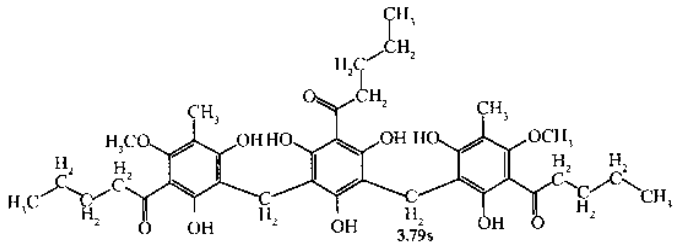
115　　**116**



32-D



32-E

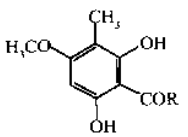


32-X

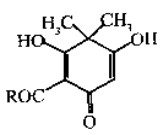
四、鳞毛蕨属植物多聚间苯三酚类化合物

很多鳞毛蕨属(*Dryopteris*)植物在古代欧洲、非洲、亚洲曾作为驱肠道寄生虫药物。国外曾用绵马的乙醚抽提物(称绵马树脂)治疗人和家畜的蛔虫病和钩虫病。其有关制剂的有效率为56%～86%,但由于早期对该粗剂型缺乏含量测定方法,因此疗效和不良反应情况报道不一致。一般服后有头晕、头痛、呕吐、腹泻、腹痛等不良反应。我国古代也用绵马、贯众作为驱虫药治蛔虫、钩虫病,也用于治疗胆道蛔虫。

鳞毛蕨属植物的驱虫成分均为由绵马酚(aspidinol,**117**)、伪绵马酚(4-aspidinol,**115**)及绵马精酸(filicinic acid,**118**)由 CH_2 碳桥连接构成。由于取代的酰基不同而构成多种化合物,而这种同系物的化学性质极为相似,因此分离较为困难。其结构研究早期主要靠还原碱分解反应,目前主要靠光谱解析,大体与仙鹤草酚类相似。光谱解析区别绵马酚类及绵马根酸主要应用^{1}H-NMR。绵马酚类分子中有一个苯环甲基,共振信号为2.10左右,而绵马根酸则有同碳二甲基,其共振信号在1.30～1.50左右,可从连接环的 CH_2 桥质子的化学位移决定。由于此 CH_2 受绵马根酸羟基的去屏蔽作用而向高场移动,因而也有显著的差别。如绵马根酸与绵马根酸类相接,则亚甲基质子化学位移为3.35左右。如绵马根酸与绵马酚类相接,则为3.55左右。如绵马酚与绵马酚相接则为3.80左右。因此也不难推定其连接关系。



117

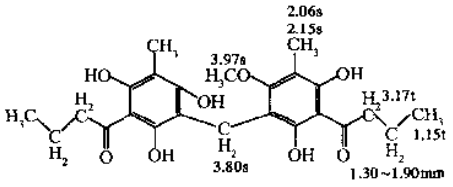


118

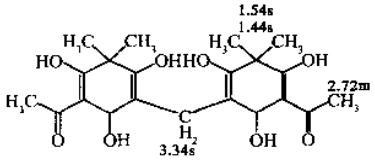
目前,已从鳞毛蕨属植物中分离得到二聚体至六聚体50多个。例如[13]

二聚 aspidin 型:margaspidin BB (**119**)。

二聚绵马根酸型：albaspidine AA（**120**）。

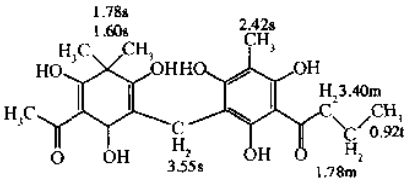


119

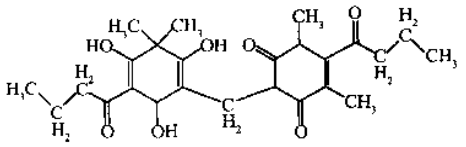


120

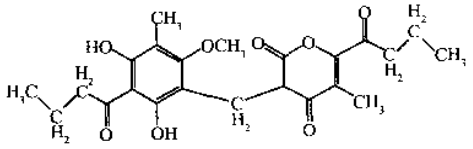
二聚混合型：flavaspidic acid AB（**121**）、phloropyran（**122**）、phloroaspyron（**123**）。



121

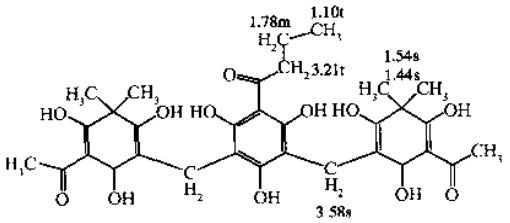


122

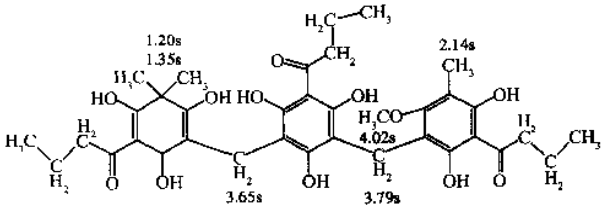


123

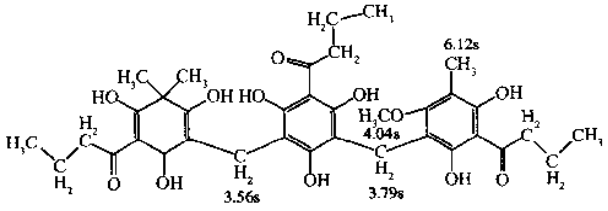
三聚混合型：filixic acid ABA（**124**）、trisparaaspidin BBB（**125**）、trisdesaspidin BBB（**126**）。



124

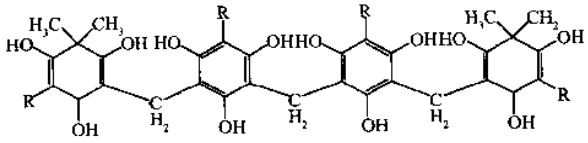


125



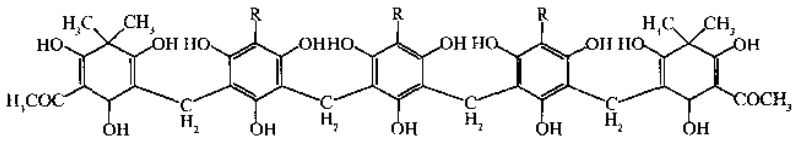
126

四聚体：methylene-*bis*-norflavaspidic acid B（**127**）。



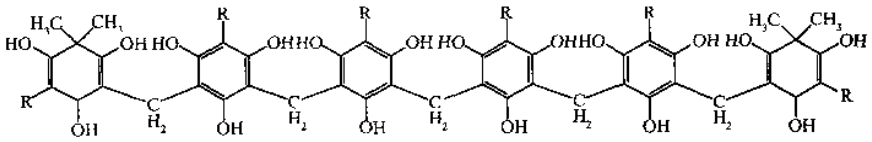
127 R=COPr

五聚体：pentaalbaspidin ABBBB（**128**）。

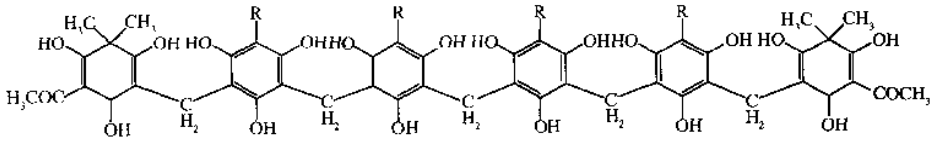


128 R=COPr

六聚体：hexa-albaspidin BBBBBB（**129**）和 hexa-flavaspidic acid ABBBBB（**130**）。



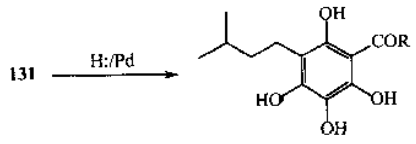
129 R=COPr



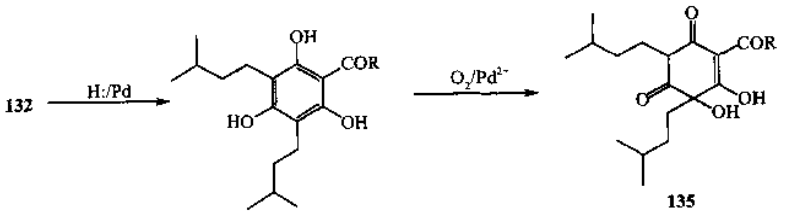
130 R=COPr

五、蛇麻酮类

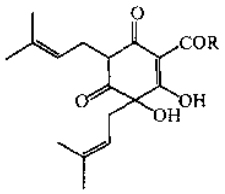
蛇麻草（hop）树脂得自桑科葎草属植物啤酒花（*Humulus lupulus*）的毬果，该植物的果或花主要被用于制造啤酒，其中的一些间苯三酚衍生物蛇麻酮（humulone，**131-a**）和 lupulone（**132-a**）等具有苦味，是啤酒的主要苦味成分。本类型化合物也存在于一些菊科植物中，它们的结构可通过化学降解或光谱方法测定。蛇麻酮类易氢化，很容易芳香化而形成间苯三酚衍生物。



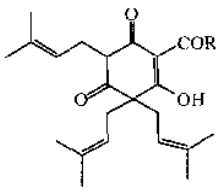
131-D



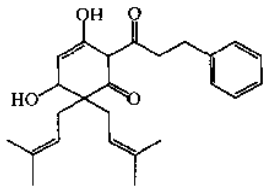
134 **135**



131-a R=$CH_2CH(CH_3)_2$
131-b R=$CH(CH_3)_2$
131-c R=$CH(CH_3)CH_2CH_3$



132-a R=$CH_2CH(CH_3)_2$
132-b R=$CH(CH_3)_2$
132-c R=$CH(CH_3)CH_2CH_3$

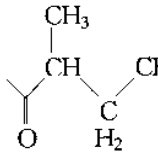


133

六、rhodomyrtoxin 与 ϕ-rhodomyrtoxin

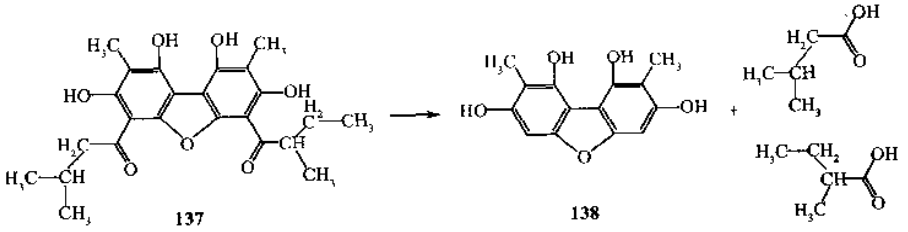
澳大利亚产 *Rhodomyrtus macrocarpa* 的浆果，当地称为指樱桃(Finger cherry)。长期以来被认为食后能导致长久的双目失明，最早是 1945 年曾有 27 名士兵误食后突然致盲。其后从中分离得到有毒成分称 rhodomyrtoxin (**136**)和 ϕ-rhodomyrtoxin (**137**)，二者熔点相同均为 201℃。大白鼠口服 13 mg/kg，猫皮下注射 6 mg/kg 均能致盲，而直接滴入眼内则无作用，因此其致盲原因可能是影响中枢神经系统所致。此两种成分有人认为是附着于植物上霉菌的代谢产物，并非植物中原始存在。

ϕ-rhodomyrtoxin(**137**)紫外光谱 λ_{max}^{MeOH}(ε)278(28 300)，系典型的双苯呋喃类的吸收。红外光谱具有 ν_{max} 1600 cm^{-1}的芳香环吸收。质谱分子离子峰为 428，即分子式为 $C_{24}H_{28}O_7$。

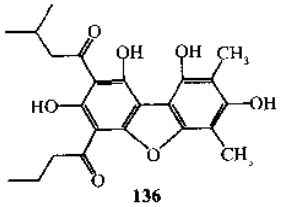
^{1}H-NMR：3.22d(2H，J=7)，1.40～2.00m，1.08d(6H，J=6.5)，示为—CO—$CH_2CH(CH_3)_2$，又 3.10～3.50 m、1.4～2.00 m 及 1.31d (3H，J=7)，0.91d (3H，J=7)为  。此外，尚有 2.22s(6H)，系芳香环上甲基和 14.25s，13.95s，3.80～4.30brs(2H)，此四个质子均能被重水交换，为四个羟基。

ϕ-rhodomyrtoxin 以碱再用 H_2SO_4 处理收得 2-甲基丁酸和异戊酸，并得到一个 $C_{14}H_{12}O_5$ 的双苯呋喃类化合物**138**。

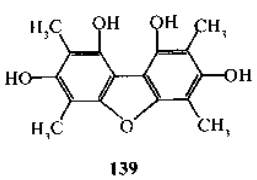
138 经甲基化可制得四甲基衍生物。其^{1}H-NMR 具有 6.27s(2H)，两个芳香质子外，尚有 2.33s(6H)，两个芳香甲基 3.95 和 3.87，两对甲基，共 12 个质子，因而推想其结构为**139**。由于 ϕ-rhodomyrtoxin 的核磁共振谱具有 14.25 和 13.95 两个缔合羟基及 3.80 和 4.30 两个非缔合羟基，因而推定其结构为**137**[14]。



137　**138**



136



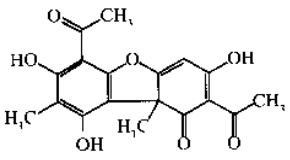
139

七、松萝酸类

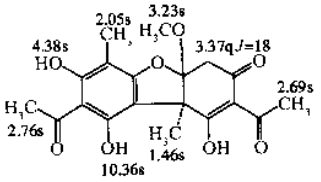
松萝酸(usnic acid，**140**)是另一类型的二苯呋喃(dibenzofuran)型化合物，是得自地衣及霉菌产物，具有

广谱抗菌作用，并能抑制结核杆菌，曾用于结核病的治疗。但由于其毒性较大，临床应用价值不大。本类型化合物的结构主要靠光谱解析及相互化学转化来确定。

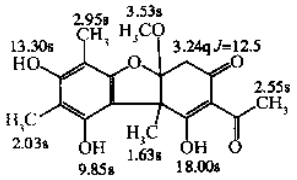
现以 placodiolic acid **141** 为例。placodiolic acid 得自 *Lecanora rubina* (Lecanoraceae)，熔点 156～170℃，$[\alpha]_D^{17}$ −280°($CHCl_3$)。高分辨质谱测定分子式为 $C_{19}H_{20}O_8$，IR υ_{max} cm^{-1} 3425 (OH)，1630 (CO)，UV λ_{max}^{MeOH} nm (lgε) 230 (4.30)、282 (4.45)、337 (3.47)，其分子式与前人分离得到的松萝酸异甲氧基化合物**142** 相似，但后者$[\alpha]_D^{25}$ −44.2°($CHCl_3$)。



140

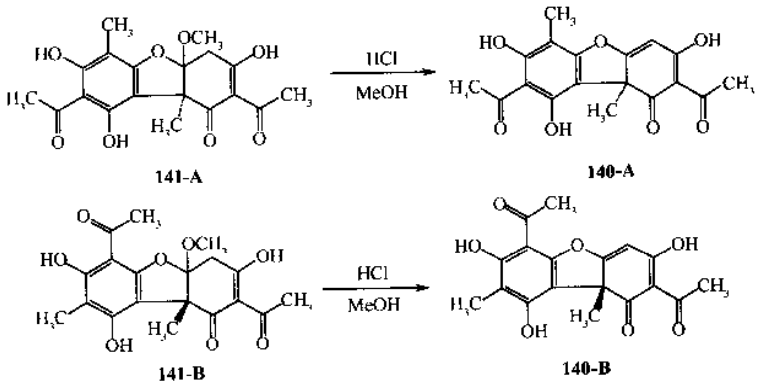


141



142

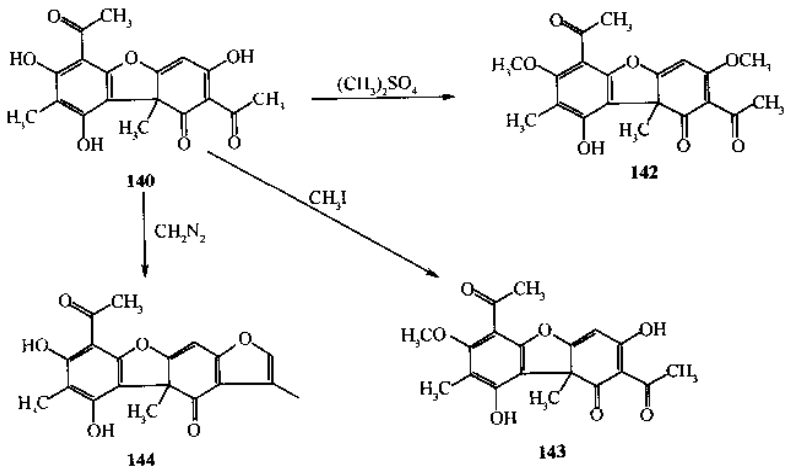
placodiolic acid (**141**)于 HCl-甲醇液中能转化为(－)-异松萝酸(**140-A**)，因此 placodiolic acid 实为异松萝酸的异甲氧基化合物，而(－)-pseudoplacodiolic acid (**141-B**)(得自 *Rhizoplaca chrysoleuca*)则同样可用酸处理而转为(－)-松萝酸(**140-B**)。



141-A **140-A**

141-B **140-B**

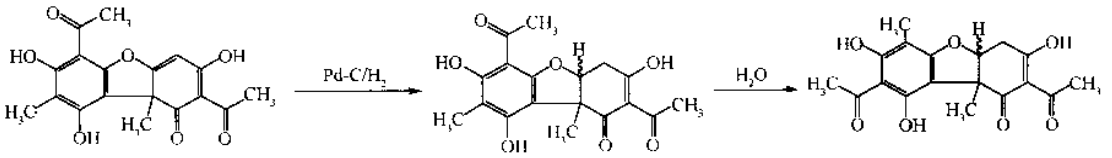
松萝酸类在不同甲基化试剂甲基化，所得产物完全不同，若以硫酸二甲酯甲基化则全甲基化而成**142**。若以碘甲烷甲基化，则酚羟基甲基化 **143**。若以重氮甲烷甲基化则能形成呋喃环化合物 **144**。



140 **142**

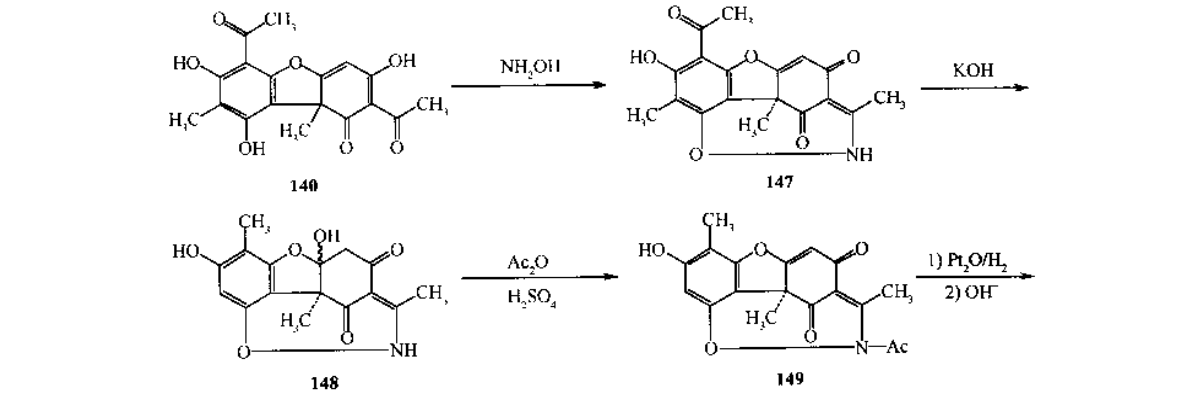
144 **143**

松萝酸若以钯碳接触氢化，收得二氢松萝酸(**145**)，二氢松萝酸于水中加热则重排转化成二氢异松萝酸(**146**)。

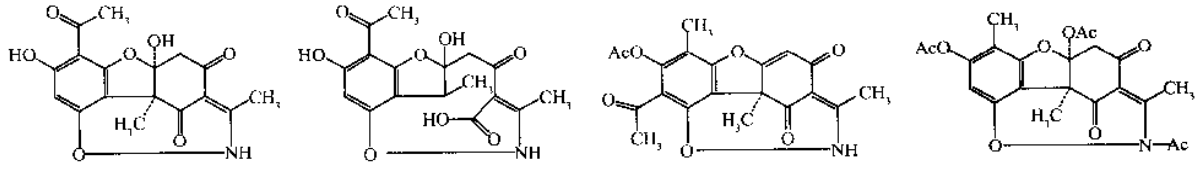


140-B　**145**　**146**

用碱接触可使松萝酸转化为异松萝酸，此过程称松萝酸异松萝酸重排。松萝酸(**140-B**)与羟胺反应形成八元环化合物 **147**，**147** 于碱溶液中重排能收得 8-去乙酰-异松萝酸(**148**)，得量 61%。此外，另得二副产物 **152**(10%)和**153**(28%)。**148** 于乙酐中脱水成 **149**(得量 80%)另形成副产物**154**(6%)和**155**(5%)。**149** 经接触氢化得 **150**，**150** 乙酰化得二乙酰衍生物 **151**，**151** 于 $AlCl_3$ 接触下经 Fries 重排，再经水解而得异松萝酸**140-A**，本反应主要用于松萝酸类的半合成和化学转化。



140　**147**　**148**　**149**



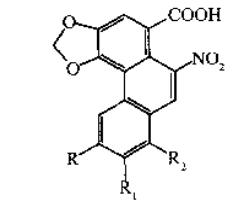
152　**153**　**154**　**155**

八、马兜铃酸及其衍生物

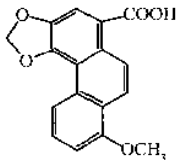
植物中硝基化合物极少，马兜铃科马兜铃属(*Aristolochia*)植物中的硝基化合物马兜铃酸(155)类具有很强的生理作用，早期发现该型化合物有抑制肿瘤细胞的作用，不仅体外试验有较强的细胞毒作用，体内试验对小白鼠肉瘤 S-37 和 P_{388} 都能明显延长其生存期，当初曾试用于临床，但由于其对肝、肾的毒性而放弃。其后又发现马兜铃酸具有抗感染及增强吞噬细胞的吞噬作用，动物试验由于长期使用氯霉素、环磷酰胺和肾上腺皮质激素等药物而引起的吞噬细胞活性降低，在使用马兜铃酸后能迅速恢复正常，临床试验结果也与动物试验一致，因而在西欧曾有多家药厂生产。我国也曾应用以马兜铃酸-A 为主的总酸称"增噬力酸"，临床试验证明对免疫功能低下，特别是老年性急性细菌或病毒感染，与抗菌素类合并用药，用于治疗和抢救有较好的疗效。另外，配合肿瘤病人的放疗和化疗，能使白细胞保持不下降，以顺利完成疗程。但近年由于发现马兜铃酸类有致癌作用，现已少用或禁用。马兜铃酸类并有抗生育作用。从印度马兜铃(*Aristolochia indica*)中分离得到不具硝基的 aristolic acid (**156**)也具有明显的抗生育作用，因此其抗生育作用也许与硝基无关[15]。

目前发现的马兜铃酸类，其特点是 C-1 位有羟基，C-3，C-4 有次甲二氧基，硝基接于 C-10，天然存在的有

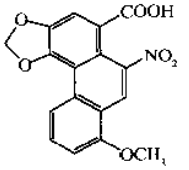
马兜铃酸 A、B、C、D、E (**155-1**、**155-2**、**155-3**、**155-4**、**155-5**)，7-羟基马兜铃酸(**155-6**)，7-甲氧基马兜铃酸(**155-7**)等[16]。此外，天然界还存在一系列马兜铃酰氨(**60**)、马兜铃酰氨苷类(**61**)[17]、青木香酸(**158**)、tuberosinone (**62**)及其苷(**63**)[18]等。



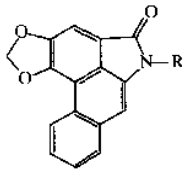
	R	R_1	R_2
155-1	H	H	$-OCH_3$
155-2	H	H	H
155-3	OH	H	H
155-4	OH	H	$-OCH_3$
155-5	$-OCH_3$	H	$-OCH_3$
155-6	H	OH	$-OCH_3$
155-7	H	$-OCH_3$	$-OCH_3$



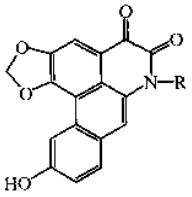
156



158

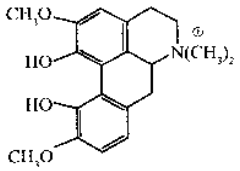


60 R=H
61 R=Glu

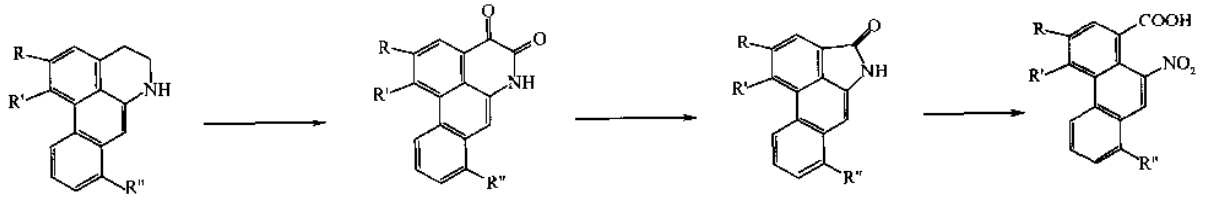


62 R=H
63 R=Glu

从这些非类衍生物的结构来看，其生源和阿朴芬(aporphine)生物碱密切相关，由于马兜铃属植物中也能分离得到木兰花碱(magnoflorine，**160**)而马兜铃酰氨类也存在于防己科的 *Stephania cepharantha*，番荔枝科(Annonaceae)的 *Schefferomitra subaequalis* 中，而与 tuberosinone 类似的二氧阿朴啡生物碱也曾从 *Stephania cepkarantha*，罂粟科的 *Fusea longifolia* 和黄花海罂粟(*Glaucium flavum*)，胡椒科的 *Piper sometum* 等植物中分离得到，因此设想它们的生源关系为

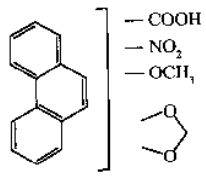


160

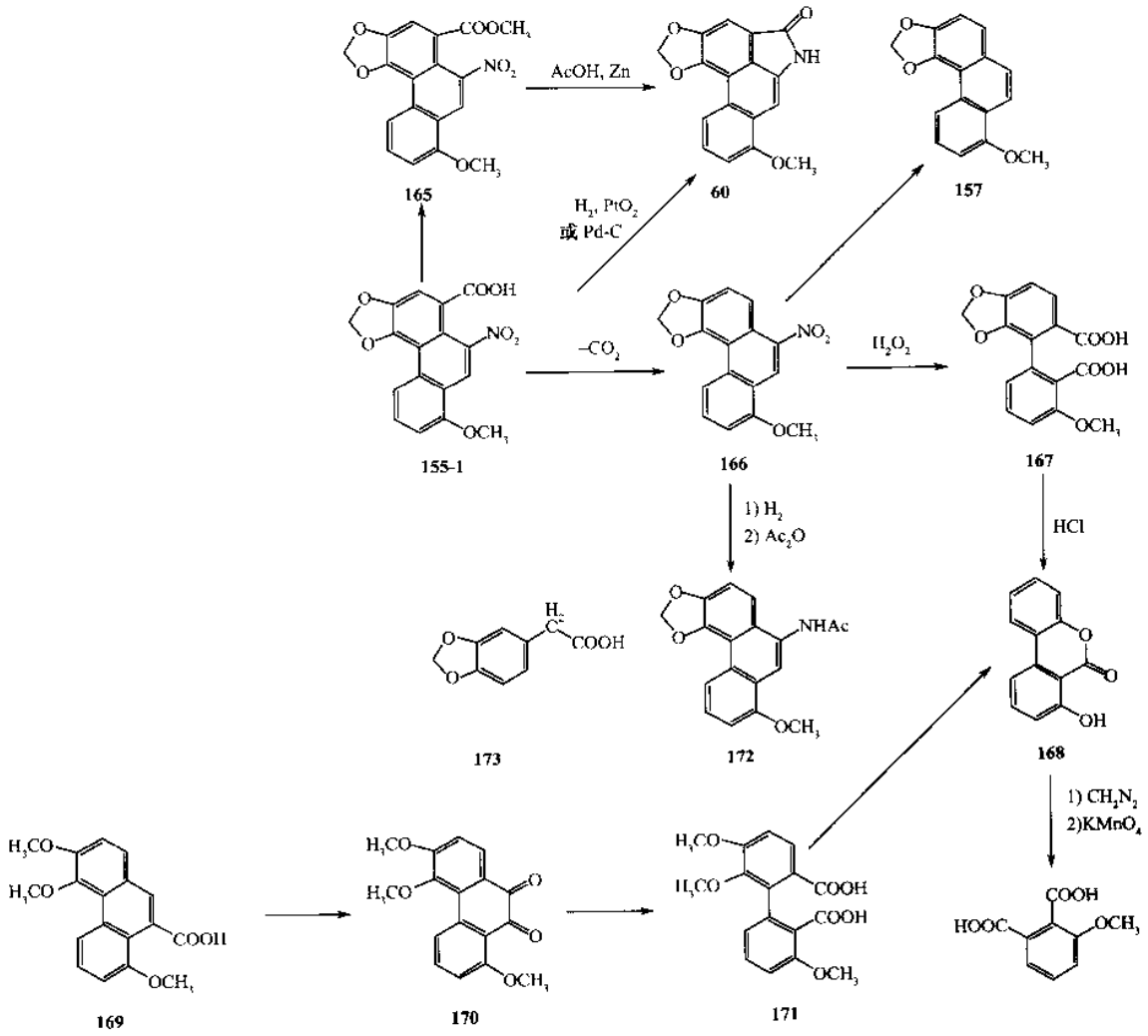


161 **162** **163** **164**

关于马兜铃酸类的结构，最早是 20 世纪 50 年代应用化学降解反应确定了马兜铃酸-A 的结构[19]。马兜铃酸-A 用锌粉蒸馏收得芳香属化合物菲，而马兜铃酸-A 的官能团分析有一个甲氧基，又以 80% 磷酸蒸馏裂解收得甲醛，证明分子中有一个次甲二氧基。又马兜铃酸-A 能溶于碳酸氢钠溶液，以重氮甲烷甲基化可收得其甲酯**165**，而 **165** 经碱水解又可回收马兜铃酸-A，因而推知结构中有一个羧基。马兜铃酸-A (**155-1**)或其甲酯 **165** 经 Pt_2O 或 Pb-C 接触氢化或用 Zn 粉于乙酸中还原，均能收得一氨基酸型化合物，此化合物极易环合成内酰氨**60**，因而证明原分子中有一个硝基，因而推定马兜铃酸-A 具有如下部分结构：

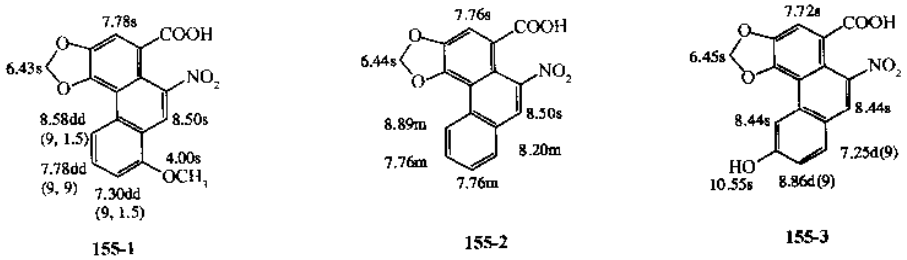


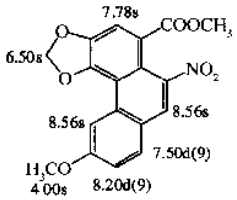
马兜铃酸-A脱羧基则形成硝基化合物**166**，**166** 以 H_2O_2 氧化则非环氧化开裂而形成二羧酸**167**。由于此氧化过程中硝基失去因而硝基位置在 C-9 或 C-10。**167** 以 HCl 脱甲基而形成一内酯**168**。Pailer 等从 3，4，8-三甲氧基菲酸-9 **169** 开始经三步合成了 **168**。又从脱羧基化合物 **166** 经氢化再乙酰化而收得 **172**。**172** 可通过 3，4-次甲二氧基苯乙酸 **173** 人工合成。根据这些反应，Pailer 等推定马兜铃酸-A 的结构为**155-1**。



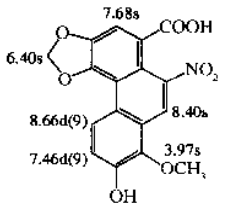
目前对马兜铃酸类的结构主要通过光谱解析，特别是通过^{1}H-NMR 解决[20]。由于本类型化合物质谱均有较强的分子离子峰，因此很容易通过质谱推定其分子式。再按其基本母核通过^{1}H-NMR芳香质子的解析，结合必要的去偶实验也就很容易推定各个芳香质子的位置，从而推定结构。现列出几种化合物^{1}H-NMR谱中各个质子的化学位移如下：

从我国产硃砂莲（*A. tuberosa*）中分离得到 tuberosinone（**62**）及 tuberosinone-*N*-*β*-D-glucoside（**63**）。

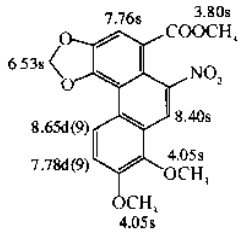




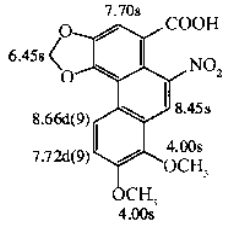
155-3 methyl



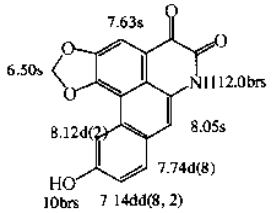
155-6



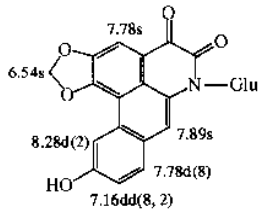
155-6 methyl



155-7



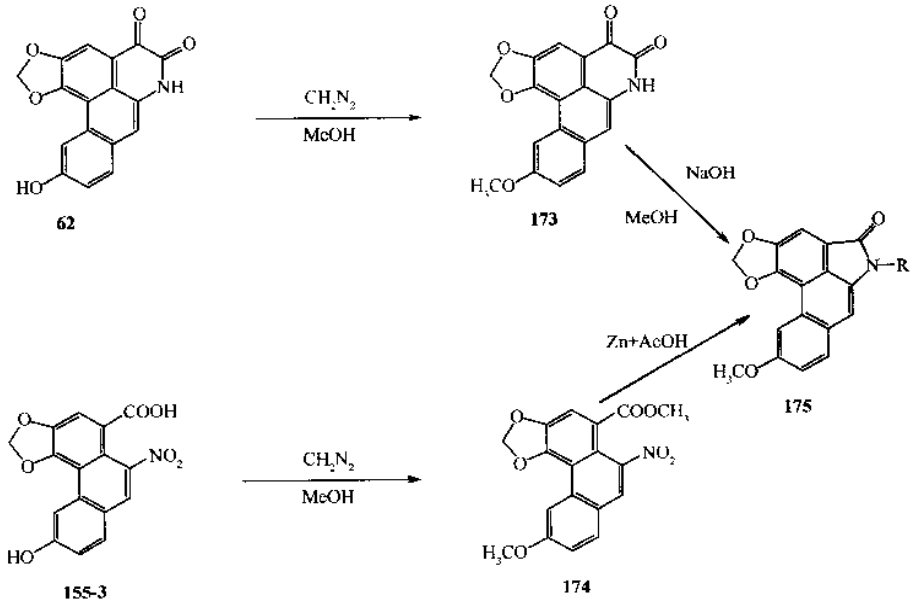
159-1



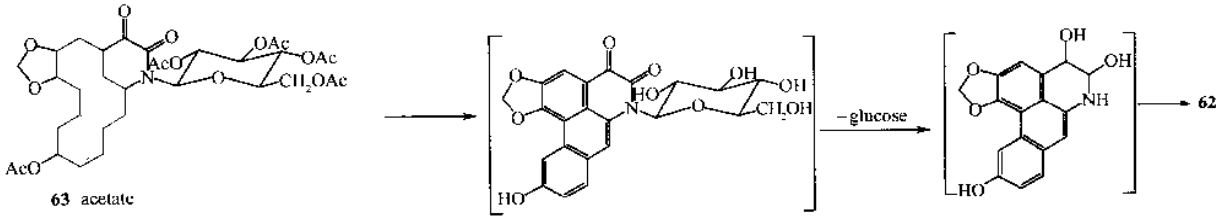
159-2

tuberosinone 为红色针状结晶，MS 307，M^+ $C_{17}H_9O_5N$，IR $\upsilon_{max}^{KBr}cm^{-1}$ 3400(OH)、3100(NH)1690、1657(C═O)，UV $\lambda_{max}^{MeOH}nm(lg\varepsilon)$238(4.57)、2.77(4.12)、286(4.15)、318(4.05)、330(4.16)、372(3.91)、390(3.94)、4.76(4.42)。

tuberosinone 经重氮甲烷甲基化，使 C-6 羟基甲基化后，再经 NaOH 处理而脱去一个 CO 而得强荧光的马兜铃酰氨-C-甲醚，这与从马兜铃酸-C 经甲基化后再以 Zn + HCl 还原所得的相应化合物一致。因此证明 tuberosinone 的结构为**62**。



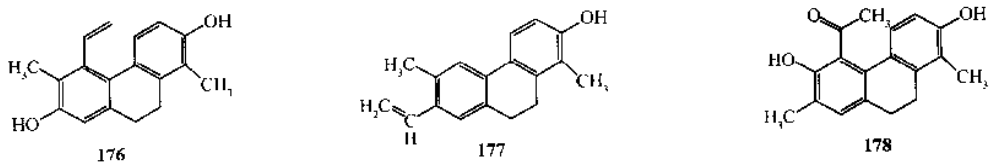
tuberosinone-*N*-β-glucoside 也为红色针状结晶。MS *m/z* 469 M^+，紫外光谱与 tuberosinone 相似，ν_{max}^{KBr} cm^{-1} 3400brs(OH)1650、1645(C═O)，而未出现 3100 左右的 NH 峰，**63** 的乙酰衍生物以铝锂氢还原，再经水解而收得葡萄糖，其苷元再经氧化而收得 tuberosinone，因此证明为 tuberosinone-*N*-β-D-glucoside。



九、juncusol

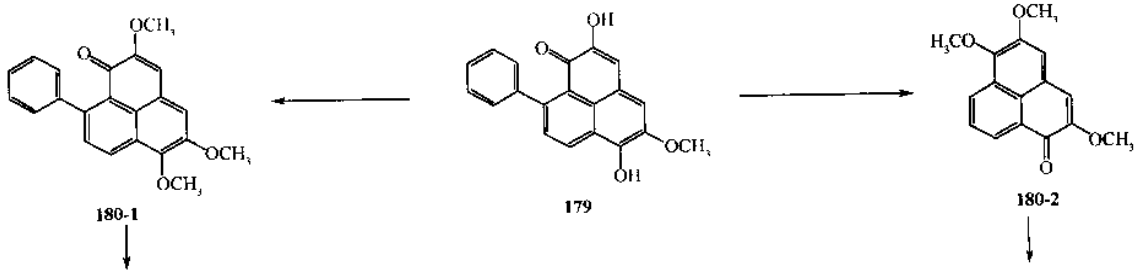
针毛状灯心草(*Juncus roemerianus*)(灯心草科 Juncaceae)广泛生长于美国密西西比河口的盐碱沼泽地区。经美国国立癌症研究所动物试验对 P_{388}，淋巴白血病(PS 系统)均有效，从中分离得到细胞毒成分 juncusol，对 KB 细胞体外培养 ED_{50} 为 0.3μg/mL[21]。

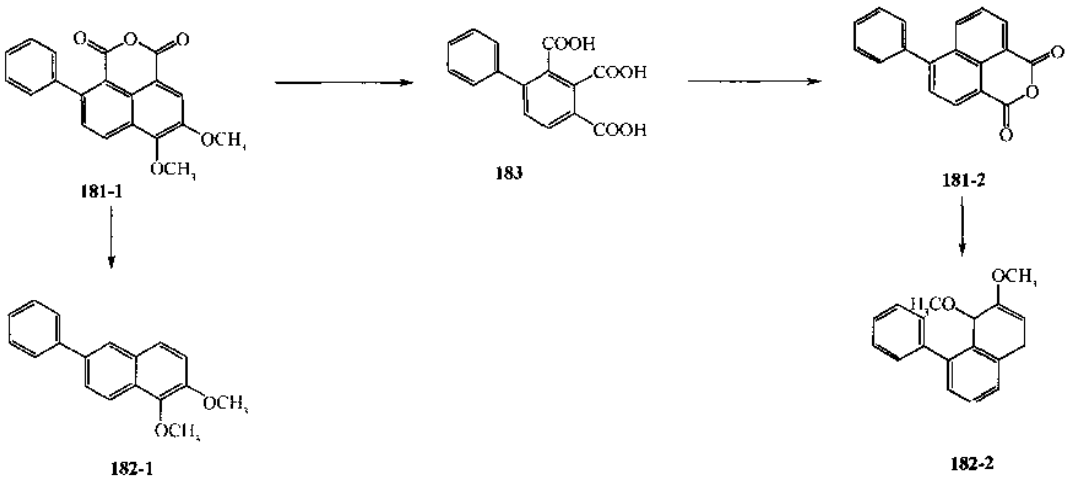
juncusol (**176**)熔点 176℃，MS *m/z* 266 M^+，$C_{18}H_{18}O_2$。IR λ_{max}^{nujol} cm^{-1} 3350(OH)、1603(芳香环)、930(单取代双键)。^{1}H-NMR($CDCl_3$)：2.25 (3H, Ar—CH_3)、2.30(3H, Ar—CH_3)、2.70 (4H)，三个质子属于 ABX 型：5.20 (1H, J_{AX}=17, J_{AB}=2)；5.40 (1H, J_{BA}=11, J_{AB}=2)；6.80 (1H, J_{AX}=17)。两个邻位芳香质子 7.60 (1H, J=7)，6.90 (1H, J=7)；两个羟基质子 6.95(2H)。根据上述数据推定 juncusol 的结构为 **176**，最终并经 X 射线衍射确证。此外还从同植物中分离得到其类似物 juncunol (**177**)和 juncunone (**178**)。



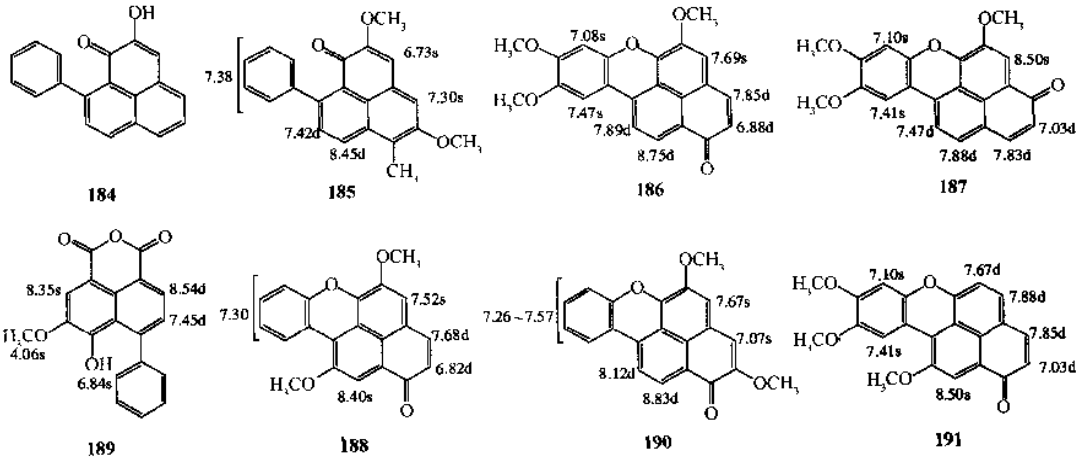
十、phenalenone 类

phenalenone 类型化合物最早是从霉菌产物中发现，其后也发现它们存在于很多热带植物中，本类型化合物具有抗菌和细胞毒活性，一般有较深的颜色。从植物中分离得到的第一个 phenalenone 类化合物为从 *Haemodorum* 属植物中分离得到的[21] haemocorinin (**179**)的苷，此苷经酸温和水解得紫红色的苷元和纤维二糖(cellubiose)。





本类型化合物的结构研究主要通过光谱解析及化学转化成已知化合物:9-苯基 phenalenone 的质谱,分子离子峰为$[M-1]^+$,是有用的定性侦查手段。主要是形成分子内铎盐形式。本类型紫外光谱有多个吸收峰。以从 *Arigozanthas rufus* 中分离得到的橘红色成分 anigorufon 为例,其紫外光谱 λ_{max}^{EtOH}nm(lgε)228(4.18)、243(4.28)、259(4.23)、269(4.19)、289(298)、340(3.79)、3.52(3.82)、368(3.88)、424(3.68)。从 *Lachnanthes tinctoria* 和 *Wachendorfia paniculata* 中分离得到的红色物质 lachnantho carpone,其紫外光谱为 λ_{max}^{EtOH}nm(lgε)243(4.18)、2.70(4.19)、302(4.08)、368(3.54)、492(3.72)。本类型化合物的^{1}H-NMR谱规律,大体与一般芳香族化合物一致,现列出几种如下:



十一、二苯乙烯类

二苯乙烯(stilbenoid)也称芪,为 1,2-二苯乙烯,其二氢化合物为二苯乙烷,由于二苯乙烷相当于两个苄基连接,因而也称作双苄 bibenyl,此二类化合物于天然界广泛存在,由于本类化合物常具有抗菌,抗炎,植物生长调节及激素样作用[23],特别 1997 年 Jang 等报道白黎芦醇 resveratrol 具有一定的肿瘤化防 chemoprevention 作用使本类型化合物受到普遍的关注[24],由于白黎芦醇一定程度上存在于葡萄及其发酵制作的酒类中,因此大大促进了葡萄酒类对人体保健作用的研究开发,也促进了二苯乙烯类化合物的化学和药理作用研究。

(1) 二苯乙烯类化合物一般类型

1) 简单的二苯乙烯类，如白黎芦醇(**192**)，本型化合物存在于 *Pinus*、*Vitex*、*Kirkpatrickia*、*Alpinia*、*Knema* 等属植物中。

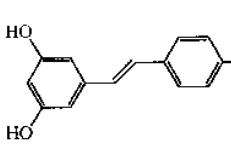
2) 戊烯二苯乙烯类 prenyl-stilben，其基本结构如 schweinfurthin (**193**)，一般存在于 *Arachis*、*Chlorophora*、*Lonchocarpus*、*Macarange* 等属植物中。

3) 双苄类 bibenyl，其基本结构如 bulbophyllin (**194**)，存在于 *Dendrobum*、*Empectum*、*Plagiochila*、*Pleione*、*Bletilla*、*Arundina*、*Bulbophyllum*、*Cirrhopelatum* 等属植物中。

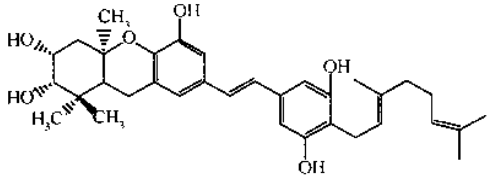
4) 二聚双苄类 bisbibenyl，如 bazzanin (**195**)，一般存在于 *Plagiochila*、*Heteroscyphus*、*Alpinia*、*Schiscpellia*、*Pellia*、*Marchantia*、*Blasia*、*Ptychanyhus*、*Bazzania* 等属植物中。

5) 多聚白黎芦醇类，一般成二聚 dimer，三聚 trimer，四聚 tetramer，这些均称白黎芦醇的低聚体 oligomer，二聚体如 cyptoslemin A (**196**)，B(**197**)，Betulifol(**198**)，三聚体如 gnetuhaiin M(**199**)，ampelopsin (**200**)，四聚体如 (+)-Vitisifuran (**201**)、kobophenol (**202**)等。它们大多存在于 *Vitis*，*Parthenocissus*、*Caragaca*、*Carax*、*Gnetum*、*Sophora*、*Chorophora*、*Hopea*、*Salacia*、*Ampelopsis* 等属植物中。

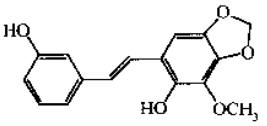
6) 结合二苯乙烯类。诸如二苯乙烯苷类：存在于 *Foeniculum*、*Pleione*、*Juncus* 等属植物中。二苯乙烯还常见与黄酮，木脂体或菲类化合物结合，一般存在于 *Bauhinia*，*Sophora*、*Gnetum*，*Macarange*、*Bazzania*、*Pleiome* 等属植物中。此外，也有人把菲类或 9,10-二氢菲类列为二苯乙烯或二苯乙烷类化合物。



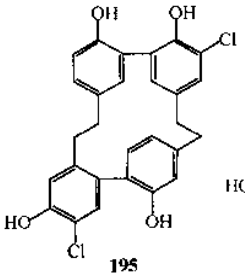
192



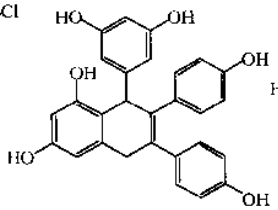
193



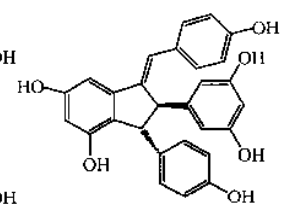
194



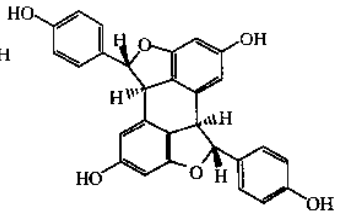
195



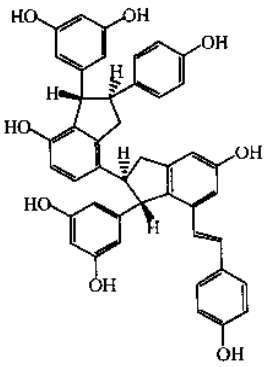
196



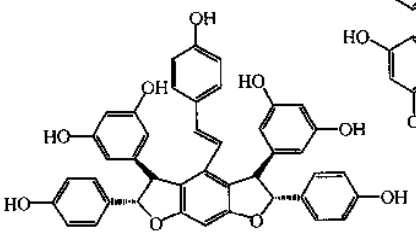
197



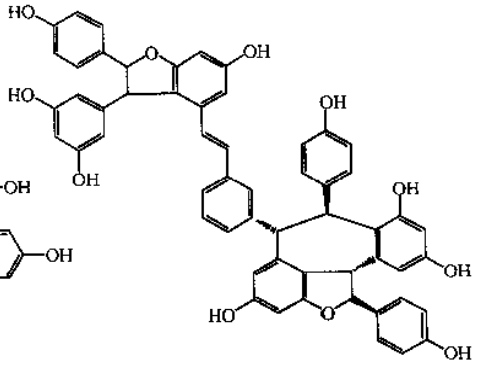
198



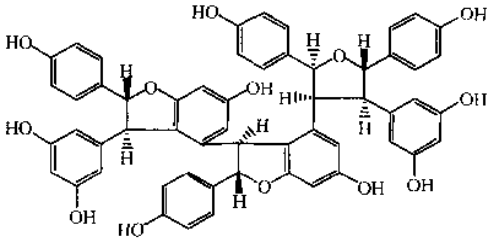
199



200



201



202

二苯乙烯类化合物的提取分离，由于该类化合物为酚性，极性程度中等，因此一般用甲醇、乙醇、丙酮等溶剂提取，再以溶剂分配除去石油醚，氯仿的非极性成分，再以硅胶或 Sephadex LH-20 层析，或反相 C-18 HPLC 分离。但于硅胶层析时由于该类化合物部分可产生载体的不可逆吸附，往往样品损失较多。

本类化合物的结构推定，目前主要靠波谱解析[25, 26]，二苯乙烯类的紫外光谱，往往取决于苯环上 OH 基的取代数目而主要出现于 308～330 nm 和 281～313 nm 两个吸收带，分别对应于两个苯环的单取代和双取代。在低聚二苯乙烯类虽由于多个发色团相互形成共轭，紫外光谱也仅为一个或两个单一的吸收峰，因此紫外光谱并不典型。红外光谱与一般酚性化合物类似。质谱主要利用 HR-MS 或 HR-FAB-MS 来确定化合物的分子式，由于二苯乙烯类为 14 个碳原子，分子中氧均以 OH 形式存在，如为戊烯二苯乙烯，则碳原子的增加为 5 的倍数。另外，对低聚白藜芦醇类的相对分子质量（如白藜芦醇为 228、各种二聚体为 454、三聚体为 680），用高分辨质谱解析已基本上可勾画出分子的基本形态，而核磁共振谱则提供了推定结构的绝大部分信息。

对简单的二苯乙烯类化合物由于分子较小，芳香质子解析也比较容易，单凭一维 ^{1}H-NMR 和 ^{13}C-NMR 不难解决苯环个数，OH 和甲氧基取代基数目和位置，乙烯桥和乙烷桥个数氧环个数和位置，按 Ph-C-C-Ph 的固定骨架推定结构式，对分子较大的低聚二苯乙烯则由于质子较多，信号相互重叠，增加了解析的困难，一般可进一步采用二维谱技术，H-HCOSY 主要能提供苯环与乙烯或乙烷桥的连接方式，苯环上质子间的间位邻位偶合以确定 OH 取代位置。HMQC 和 HMBC 提供分子中碳原子间连接方式的信息，NOESY 对了解低聚二苯乙烯类化合物中各个二苯乙烯间连接方式，空间位置以及分子的相对构型。因此利用这些技术基本上不难推定单分子或低聚二苯乙烯的平面和立体结构，有关二苯乙烯的波谱特征及解析林茂等已有综述[27]。

(2) 二苯乙烯类的生理作用[25, 26]

本类化合物的生理作用 Sothecswaran 和 Pasupathy 已做过综述[27]，白藜芦醇(**192**)的生理作用受到广泛的重视，这种植物性防御素 phytoalexin 对肿瘤的作用，在肿瘤的形成和发展的三个阶段均有化学预防 chemoprevention 活性，即在肿瘤的起始期 initiation 具有抗氧化抗突变和诱导次级的药物代谢酶，对肿瘤的促进阶段 promotion 具有间接的抗炎作用和抑制环氧化酶及过氧 OH 基酶的作用，对肿瘤发展阶段具有诱导人体早幼粒细胞白血病细胞的分化，并能抑制小鼠乳腺癌致癌处理的肿瘤前期发生的作用。此外，白藜芦醇并有阻止小鼠肝脏对甘油三酯和胆固醇的吸收，降低血清中甘油三酯及低密度脂蛋白胆固醇 LDL-Ch 水平，降低肝脏甘油三酯的合成，影响白细胞中花生四烯酸的代谢和抑制 5-OH 基-24-碳四烯酸 5-HETE 及 OH 基十七碳烯酸 HHT 和血栓素-B_2(TXB$_2$) 的形成的作用，因此对防止动脉粥样硬化和预防冠心病有重要意义。

一般酚性化合物常具有抗菌，抗真菌，抗病毒作用[27]，二苯乙烯类化合物很多也有类似的生物活性，lunularic acid、piceatannol、白藜芦醇、3′ 和 4′取代的二苯乙烯类、双苄类、kobophenol (**202**)、marchantin A 等均有抗菌抗真菌作用，dibalanocarpol 和 balancarpol 有中等的抗 HIV 活性，ED_{50} 各为 46μg/mL 和 20 μg/mL[28]。Manfredi 等报道从北美民间药野甘草 (*Glycyrrhiza lepidota*) 中分离得到 glepidoin C 具有抗 HIV 活性，EC_{50}为 30 μg/mL 和 2.0 μg/mL[29]。

日本科学家 Oshima 等发现 ampelopsin E 和 *cis*-ampelopsin E 对由于四氯化碳引起的肝损伤有保护作用，于 0.1 mg/mL 剂量使血清谷丙转氨酶水平分别降低 64% 和 73%。Piceid 及 2,3,4′,5-tetrahydroxystilben-2-*O*-β-D-glucopyranoside 能部分抑制氧化脂质在肝内沉积，降低血清谷丙转氨酶和谷草转氨酶水平，

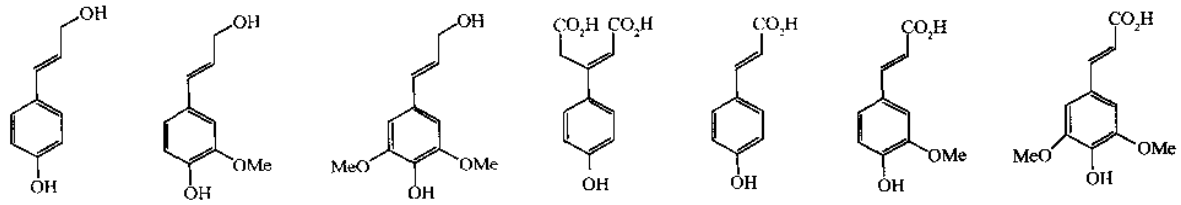
具有强烈的保肝作用。此外，白黎芦醇体外试验能抑制 ADP 及 NADPH 诱导的大鼠肝微粒体脂质的过氧化，然而 Oshima 等也发现某些二苯乙烯类化合物诸如 vitisin A 和 *cis*-vitisin A 具有强烈的肝毒作用，奇怪的是其原植物被用来治疗肝病，因而推测二苯乙烯类的保肝作用具有很大的结构专特性。

二苯乙烯类化合物是植物生长调节因子，lunularic acid 和 batatesin 能影响植物的呼吸和光合作用。两者并能诱导植物休眠和抑制植物生长。很多二苯乙烯类诸如 malibatol, schweinfurthin A、B、C, marchantins, riccardins, pallidol, vatdiospyroidol, resveratrol *trans*-dehydro-dimer 等均具有细胞毒作用。20 世纪 80 年代，Strickland、Kagechika、Bear 等实验室合成了一系列具有二苯乙烯骨架的与维生素 A 类似的视黄素 retinoid 类型化合物，其中不少具有抗白血病 L_{1210}活性，一些低聚二苯乙烯类对白三烯 B4 具有生成抑制及受体拮抗作用。Vitisin B 和 C 对肿瘤坏死因子 TNF，有抑制作用。piceatannol，为酪氨酸蛋白激酶 protein-tyrosine kinases (PTKs)抑制剂。白黎芦醇及 3,3′,4-trihydroxystilben 能强烈抑制 5-脂质氧化酶(5-HETE)、5,12-di HETE 及白三烯 LTC4，提高 CAMP 水平。(+)-vinferin 具有抑制 PG-H_2 合成酶的环氧化酶活性，这些均说明有些天然二苯乙烯化合物具有抗炎活性。(+)-viniferin 对 carrageenin 导致的大鼠爪水肿模型具有抗炎作用，(+)-viniferin、miyabenol C、kobophenol A 于低浓度即有抑制蛋白激酶 C protein-kinase C 的作用。

此外，从 *Rheum palmatum* 中分离得到的 rhapontin 和 4′-methoxypiceid 具有抑制 α-糖苷酶活性，这些体外实验结果说明二苯乙烯类的生物活性值得进一步总结，其应用前景也有待努力开发。

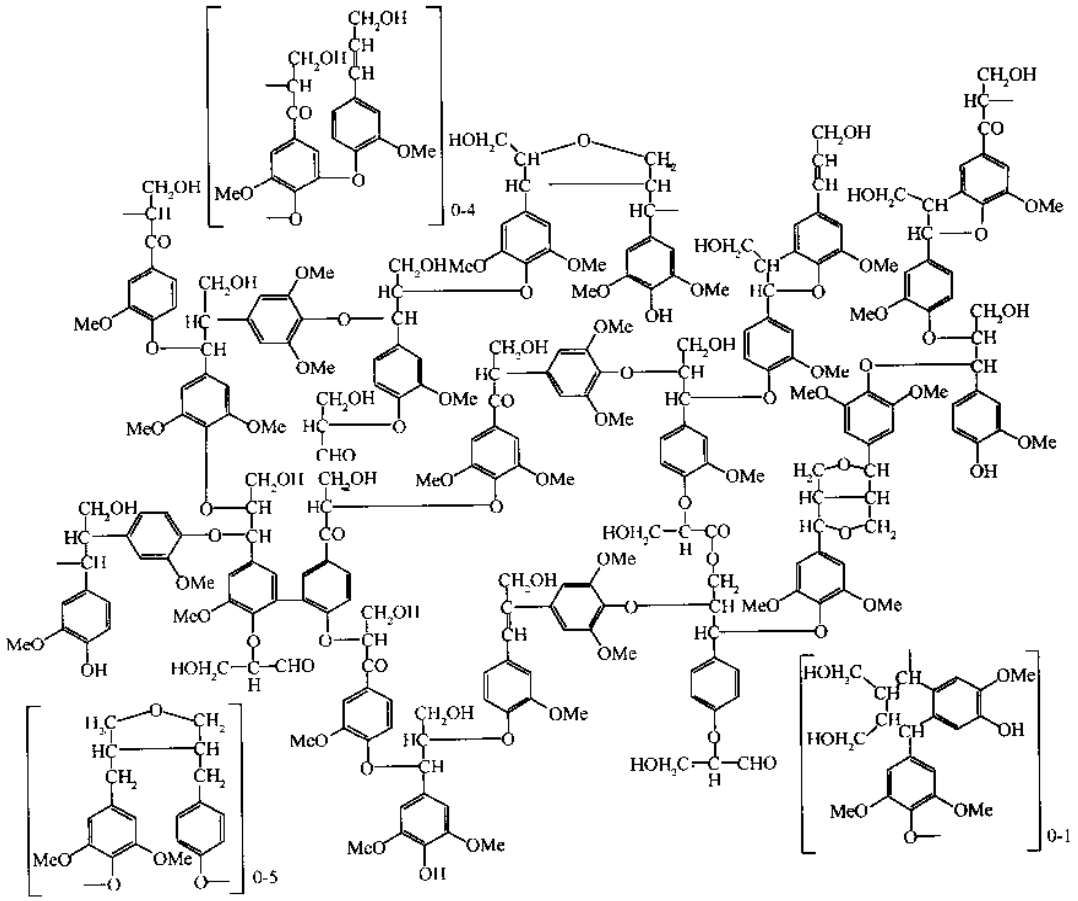
十二、苯丙素类酚酸化合物

植物中的生物大分子 biopolymer 目前所知主要有三大类即多肽蛋白质，多糖和另一类也是组成维管束和支持植物体的木质素 lignin[30]，木质素的构成单分子前体总称单分子木质醇 monolignol，其中主要为对位桂皮醇 *p*-coumaryl alchohol (**203**)、松柏醇 coniferyl alchohol (**204**)、芥子醇 sinapyl alchohol (**205**)，以及它们的相应酸类，泥炭藓酸 sphagnum acid (**206**)、对位桂皮酸 p-coumaric acid (**207**)、阿魏酸 ferulic acid (**208**)和芥子酸(**209**)。这些化合物都具有苯丙基 Ph-C-C-C-的基本结构，从生源角度均来自苯丙氨酸 phenylalanine 或酪氨酸 tyrosine (对 OH 基苯丙氨酸)，因此一般均称苯丙素类。

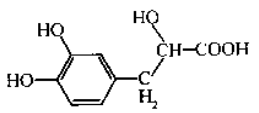


木质素的基本结构 Nimz 于 1974 年对山毛榉木质素的结构推定为 **210**[31]，它基本上代表了多聚苯丙素类的聚合连接方式，单分子木质醇相互常以 C-7-O-C-4′、C-8-O-C-4′、C-7-O-C-9′、C-3-O-C-4′、C-9-O-C-9′、C-8-O-C-9′、C-7-C-8′、C-8-C-8′、C-8-C-5′、C-5-C-5′、C-8-C-1′、C-7-C-6′连接构成多聚苯丙素类，这种聚合形成的低聚体即二聚或三聚物为木脂体 lignan，本书另有专门章节叙述，其氧化型的低聚体构成生物活性值得注意的另一类，其代表化合物为丹酚酸类。

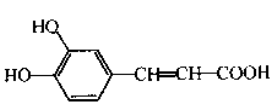
丹参 *Salvia miltiorrhiza* 为我国传统中药，主要有祛瘀止痛，活血通经，清心除烦作用，为活血化瘀的著名中药，广泛用于冠心病心绞痛，该药早期徐任生等已有专著[32]，其对心血管系统的有效成分，20 世纪后期特别注意其苯丙素酸类聚合物及其与金属结合的复合物。其单分子组成主要为丹参素即 D-(+)-(3,4-二 OH 基苯基)-乳酸 DHPLA (**211**)、咖啡酸(**212**)。从丹参中分离得到的该类化合物已有十多种[33]，计为丹酚酸 salvianolic acid A (**213**)、B(**214**)、C(**215**)、D(**216**)、E(**217**)、F(**218**)、G(**219**)、H(**220**)、I(**221**)、J(**222**)，迷迭香酸 (rosmarinic acid, **223**)，紫草酸 (lithospermic acid, **224**)，异丹酚酸 C (isosalvianolic acid, **225**)和 salviaflaside(**226**)。



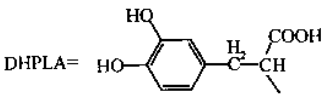
210

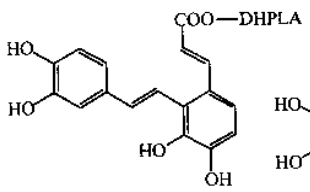


211

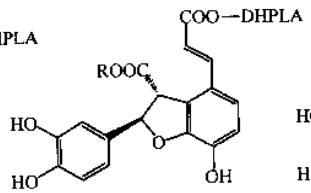


212

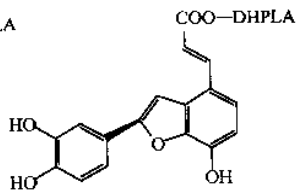




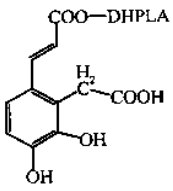
213



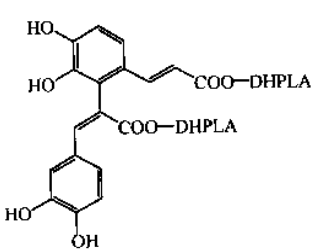
214



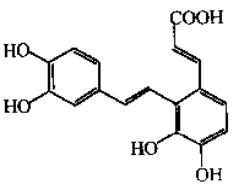
215



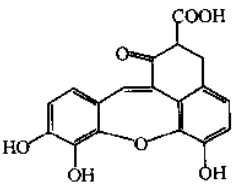
216



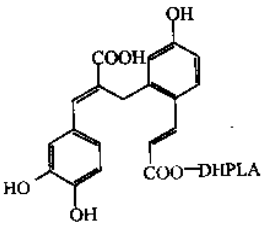
217



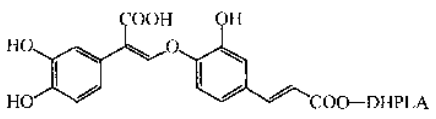
218



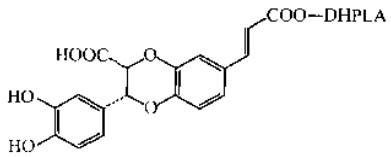
219



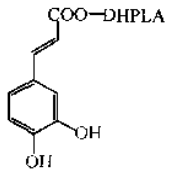
220



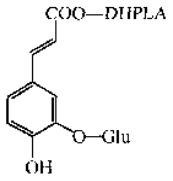
221



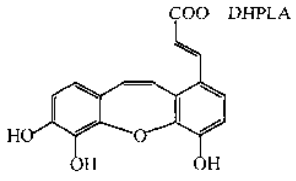
222



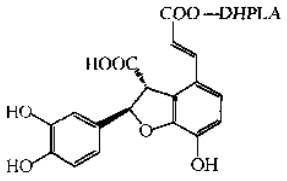
223



224



225



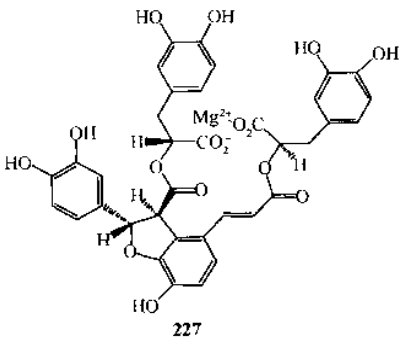
226

下面介绍丹酚酸类的药理作用[33~35]。丹参是著名的活血化瘀中药，早期从丹参水溶性部分或丹参注射液分离得原儿茶醛 protocatechuic aldehyde 和丹参素 DHPLA（**211**），两者皆有冠状动脉扩张作用，均为丹参对心血管系统的有效成分，其后发现一系列苯丙素酚酸类低聚体具有更重要的心血管系统活性。丹参素能明显扩张冠状动脉，增加血流量，能明显增加心肌和脑组织中 ATP 的含量，因而在缺血和缺氧情况下能保护心肌，对结扎兔冠状动脉前降支造成的心肌梗死具有明显的缩小梗死范围。丹参素也能缩小犬急性心肌梗死范围，改善因结扎犬冠状动脉而引起左心室内压下降和舒张期终末压升高，对维持心脏功能起到有益的作用。此外，丹参素对 ADP 诱导的血小板凝集有明显的抑制作用，能增加局部组织微循环，阻止脂质过氧化，保护心肌线粒体膜不受伤害。兔静脉注射丹参素能明显延长血栓形成时间，降低血浆中前列环素 PGI_2 和血栓素 A_2（TXA_2），丹参素还有降低细胞内胆固醇合成及抗脂蛋白氧化，具有预防动脉粥样硬化的作用。

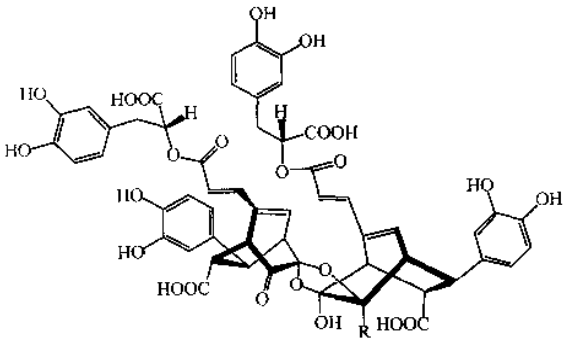
丹酚酸 A（**213**）和 B（**214**）及迷迭香酸（**223**）均有抗氧化，抗血小板聚合和抗血栓作用，且均较原儿茶醛和丹参素为强。丹酚酸 A、B 和迷迭香酸三者均有清除氢自由基和 OH 自由基作用。丹酚酸 A、B 对缺氧再灌注引起的心脏和脑损伤有保护作用，保护氧自由基对心脏和肝脏线粒体损伤，减少离体大鼠心脏室性纤维性颤动的发生。

丹酚酸 A 及其类似物可通过清除脑缺血再灌注过程中产生的 OH 自由基，抑制脑组织脂质过氧化反应，减轻缺血再灌注引起的脑组织损伤，从而改善脑暂时性缺血后引起的学习记忆功能障碍，因而对心脑血管疾病的防治有重要意义。

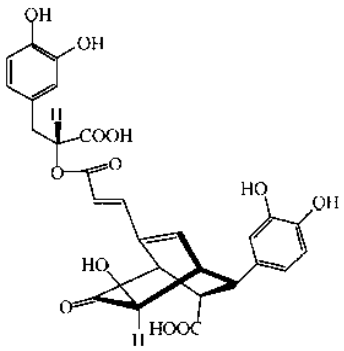
20 世纪 90 年代以来，不少学者从丹参的水溶性部分直接分离得到丹酚酸类的镁盐。丹酚酸 B 镁盐**227** 对由四氯化碳或半乳糖氨引起的肝损伤有保护作用，其对肝肾功能不全的改善作用主要与其对花生四烯酸代谢的影响有关[36]。Tanaka 等从云南鼠尾草（*Salvia yunnanensis*）中分离得到 yunnaneic acid A（**228**）、B（**229**）、C（**230**）、D（**231**）。这些化合物也均有缓解尿毒作用[37]。近年对丹酚酸镁盐正研究开发用于心脑血管疾病[38]。



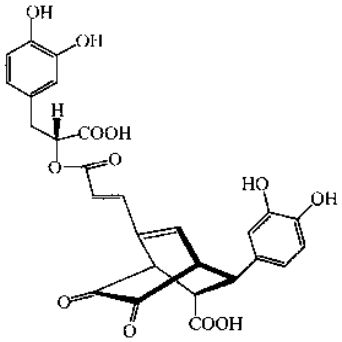
227



228 *R*=H
229 R=OH



230



231

参 考 文 献

[1] Nadanishi K. Natural Products chemistry, 1975, 2: 131
[2] 户道夫他. 天然产物结构式集 讲谈社出版, 1978
[3] Mechonlam R et al. Fort Chem Org Naturatoffe, 1967, 25: 174
[4] Edery H et al. Arzneim-Forsch, 1972, 22: 1795
[5] Bohlmann F et al. Phytochem, 1981, 20: 2601
[6] Bohlmann F et al. Kexue Tongbao, 1984, 29: 900
[7] Bohlmann F et al. 科学通报, 1984(12): 735
[8] Bohlmann F et al. Chem Ber, 1969, 102: 864
[9] Inamori Y et al. Chem Pharm Bull, 1985, 33: 2904
[10] Numato A et al. Chem Pharm Bull, 1983, 31: 2146
[11] Numato A et al. Chem Pharm Bull, 1984, 32: 1174
[12] Orth W A et al. Ann, 1963, 663: 83
[13] Lounasmaa M et al. Phytochem, 1973, 12: 2017
[14] Josef V E et al. Helv Chim Acta, 1985, 68: 1251
[15] Anderson N H et al. J Chem Soc (C), 1969: 2403
[16] Drugs of the Future, 1979, 4: 475
[17] 陈仲良等. 化学学报, 1981, 39: 237
[18] Horacio A Preistap. Phytochem, 1985, 24: 849
[19] Zhu D Y et al. Heterocycles, 1982, 17: 345
[20] Pailer et al. Monatsch, 1956, 87: 249
[21] Mix D B et al J Natural Products, 1982, 45: 657
[22] Homard D Miles et al. J Org Chem, 1981, 46: 2813
[23] Cooke R G et al. Fort Chem Org Naturstoffe, 1981, 40: 153
[24] Jang M et al. Science, 1997, 275: 218
[25] Gorham J. Methods in Plant Biochem, London: Academic Press, 1989, 1: 159
[26] Li N et al. Acta Pharm Sinica 2001, 36 (12): 944
[27] Li X et al. Acta Pharm Sinica 2002, 37 (1): 69
[28] Sotyeeswaran S et al. Phytochem 1993 32 (5): 1083
[29] Dai J et al. J Nat Prod 1998, 61: 351
[30] Monfredi K P et al. Phytochem 2001, 58: 153
[31] Barton D H R et al. Comprehensive Natural Products Chem. Vol Ⅲ, New York: Elsevier Science, 1999
[32] Nimz H et al. Angew Chem Int Ed 1974, 13: 313
[33] 徐任生. 丹参——生物学及其应用. 北京: 科学出版社, 1990
[34] Li L N. Pure Appl Chem, 1998, 70 (3): 547
[35] 陈伟等. 中草药 1999, 30: 391
[36] 凌海燕等. 天然产物研究与开发 1998, 37: 340
[37] Tanaka T et al. Chem Pharm Bull 1989, 37: 340
[38] Tanaka T et al. J Nat Prod 1996, 59: 843

(陈仲良)

第十八章　强心苷类化合物

第一节　概　　述

强心苷是能增强心肌收缩作用的甾体配糖体，其结构的共同点是甾体骨架，C-17 位带有不饱和五元内酯环或双不饱和六元内酯环，C-3 位连有各种六碳糖。

Nativelle 于 1869 年首先从紫花洋地黄（*Digitalis purpurea*）中分得强心配糖体 digitaline，1935 年 Stall 等发现科学家们早期所分到的强心苷大多是业经酶解过的次生苷，并不是植物中原生的配糖体，次生苷虽有强心作用，但却远比原生苷弱。于是，他们在解除植物中酶影响的条件下，首先从紫花地黄中分到了原生苷 purpurea glycoside A 与 B，以后又先后从毛花洋地黄（*Digitalis lanata*）、康毗毒毛旋花（*Strophanthus kombe* Oliv.）、海葱（*Scilla maritima*）、夹竹桃（*Nerium indicum* Mill）等植物中分到许多原生的强心苷。

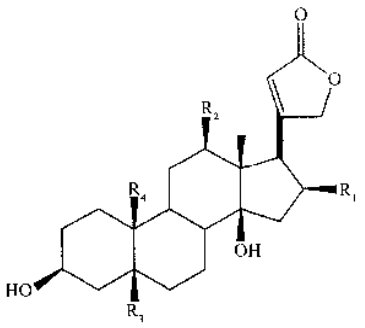
强心苷大多分布在玄参科（Scrophulariaceae）、夹竹桃科（Apocynaceae）、萝藦科（Asclepiadaceae）、百合科（Liliaceae）等植物的种子、根、茎、叶中，并以种子含量最高。中草药万年青的根，羊角拗种子中也含有强心苷。

临床上常用的强心苷有西地兰（cedilanid，deacetyllanatoside C）、地高辛（digoxine）、毒毛旋花素 K（K-strophanthin）、铃兰毒苷（convallatoxin）等多种。国内除毒毛旋花素 K 外均已能生产。用以治疗急慢性充血性心力衰竭与节律障碍。用的最多的是洋地黄类强心药物西地兰与地高辛。

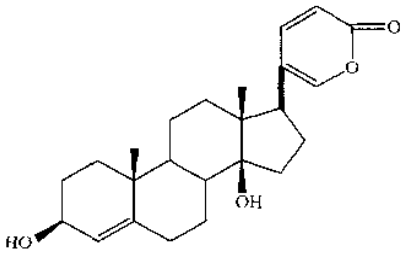
常见的强心苷及其物理常数见表 18-1。

表 18-1　常见的强心苷物理常数表

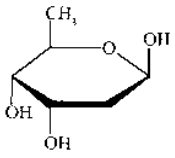
名称	分子式	熔点/℃	$[\alpha]_D$	苷元				糖元	植物来源
				名称	分子式	熔点/℃	$[\alpha]_D$		
紫花洋地黄苷甲（purpurea glycoside A）	$C_{47}H_{74}O_{18}$	280	10.8°（75% EtOH）	洋地黄毒苷元(1)（digitoxigenin）	$C_{23}H_{34}O_4$	250	19.1°（MeOH）	3D-洋地黄毒糖（digitoxose）-D-葡萄糖	紫花洋地黄
毛花洋地黄苷甲（lanatoside A）	$C_{49}H_{76}O_{19}$	248	31.1°（95% EtOH）	洋地黄毒苷元(1)（digitoxigenin）				2D-洋地黄毒糖-D-3-乙酰洋地黄毒糖-D-葡萄糖	毛花洋地黄
紫花洋地黄苷乙（purpurea glycoside B）	$C_{47}H_{74}O_{19}$	242	15.6°（75% EtOH）	羟基洋地黄毒苷元(2)（gitoxigenin）	$C_{23}H_{34}O_5$	235	38.6°（MeOH）	3D-洋地黄毒糖（digitoxose）-D-葡萄糖	紫花洋地黄
毛花洋地黄苷乙（lanatoside B）	$C_{49}H_{76}O_{20}$	248	36.7°（95% EtOH）	羟基洋地黄毒苷元(2)（gitoxigenin）				2D-洋地黄毒糖-D-3-乙酰洋地黄毒糖-D-葡萄糖	
毛花洋地黄苷丙（lanatoside C）	$C_{49}H_{76}O_{20}$	248	33.4°（95% EtOH）	异羟基洋地黄毒苷元(3)（digoxigenin）	$C_{23}H_{34}O_5$	222	27.0°（MeOH）	2D-洋地黄毒糖-D-3-乙酰洋地黄毒糖-D-葡萄糖	毛花洋地黄
去乙酰毛花洋地黄苷或西地兰	$C_{47}H_{47}O_{19}$	268	12.0°（75% EtOH）	异羟基洋地黄毒苷元(3)（digoxigenin）				3D-洋地黄毒糖（digitoxose）-D-葡萄糖	毛花洋地黄
地高辛	$C_{41}H_{64}O_{14}$	265	13.3°（Py）	异羟基洋地黄毒苷元(3)（digoxigenin）				3D-洋地黄毒糖(7)	毛花洋地黄
毒毛旋花素苷 K（K-strophanthoside）	$C_{42}H_{64}O_{19}$	220	13.9°（MeOH）	毒毛旋花素苷元(4)（strophanthidin）	$C_{23}H_{32}O_6$	178/232	43.1°（MeOH）	D-加拿大麻糖(8)（cymarose）-D-葡萄糖	毒毛旋花
毒毛旋花素 K（K-strophathin）	$C_{36}H_{54}O_{14}$	195	32.6°（H_2O）	毒毛旋花素苷元(4)（strophanthidin）				D-加拿大麻糖-D-葡萄糖	
铃兰毒苷	$C_{29}H_{42}O_{10}$	242	15°（Py）	毒毛旋花素苷元(4)（strophanthidin）				L-鼠李糖	铃兰
夹竹桃苷（oleandrin）	$C_{32}H_{48}O_9$	250	−52.1°（MeOH）	夹竹桃苷元(5)（oleandrigenin）	$C_{23}H_{36}O_5$	225	−8.5°（MeOH）	L-夹竹桃糖(9)（oleandrose）	夹竹桃
海葱苷甲（scillaren A）	$C_{36}H_{52}O_{13}$	270	−71.9°（MeOH）	海葱苷元(6)（scillarenin）	$C_{24}H_{32}O_4$	238	−16.8°（MeOH）	L-鼠李糖-D-葡萄糖	



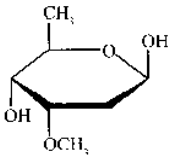
1 R_1-R_2-R_4-H, R_3-CH_3
2 R_1=OH, R_2-R_3-H, R_4-CH_3
3 R_1=R_3=H, R_2-OH, R_4-CH_3
4 R_1-R_2-H, R_3-OH, R_4-CHO
5 R_1=$OCOCH_3$, R_2-R_3=H, R_4-CH_3



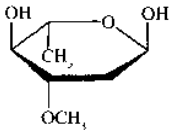
6



7



8



9

第二节 强心苷的性质

强心苷都是中性化合物，为无色结晶，味苦，有旋光性，和大多数配糖体一样能溶于乙醇、甲醇或水，难溶于乙醚、氯仿等溶剂。强心苷包括苷元分子内，含羟基愈多则亲水性愈强，因此含有多个糖的强心苷有时能直接溶于水。强心苷在常温下还算稳定，在酸或酶作用下易水解或异构化。根据酸的强度而水解成带一个或几个糖的次生苷或苷元。强心苷的性质与其结构有关，可进一步参见本章第五节。

强心苷分子中 β 型不饱和内酯环是强心作用的主要基团，而糖的连接则增加了它的溶解度与吸收，排泄作用，一般情况下糖的联结越多则毒性越小，疗效越高。

第三节 强心苷的检测

针对强心苷结构中含甾体骨架，α,β-不饱和内酯环及脱氧糖，葡萄糖等特点，常用下列几种显色剂反应以鉴别结构，当然波谱解析仍属主要鉴定结构手段。

(1) Lieberman-Burchard 反应

取试管将样品溶于少量乙醇，将乙醇挥发至干滴加乙酸酐，样品全部溶解后(如样品能溶于乙酸酐则可直接用它溶解样品)沿管壁加入 0.5mL 浓硫酸，两液层间显紫色环，且乙酸酐层显蓝色证明试样含甾体结构。

(2) Molish 反应

将试样溶于少量乙醇，加三滴 10% α-萘酚乙醇溶液，沿壁加入 0.5mL 浓硫酸，两液层间显蓝或紫色环证明试样含糖。

(3) Kedde 反应

将试液滴在滤纸上，滴加 Kedde 试剂(1 g 3,5-二硝基苯甲酸溶于 50 mL 甲醇，加入 1 mol/L KOH 50 mL)显紫红色斑点证明试样含 α,β-不饱和内酯。

(4) Legal 反应

将试液滴在滤纸上，滴加 Legal 试剂［1 g 亚硝基铁氰化钠溶于 100 mL 2 mol/L NaOH-EtOH(1:1)的水溶液］显红色或紫色证明试样含 α，β-不饱和内酯。

(5) Keller-kiliani 反应

于试样中加 0.5% $FeCl_3$ 的乙酸溶液，沿管壁加浓硫酸，二液面间显棕色或其他颜色，乙酸层显蓝色，证明试样含 2-脱氧糖。

第四节　强心苷的提取与分离

从植物中分离提纯强心苷是比较复杂与困难的工作，这是因为它在植物中的含量一般都比较低(1%以下)，又常常与性质相类似的皂苷等混杂在一起，如洋地黄叶中含洋地黄皂苷(digitonin)。同一植物又常含几个或甚至几十个性质近似的强心苷，每一个苷又有原生苷，次生苷与苷元的区别，这些都增加了分离提纯工作的难度。所以，用一般分离方法常要通过多次反复处理或色谱方法才能分离得到纯品。

一、原生苷的提取

由于植物中的酶容易水解原生苷，因此提取原生苷时首先要抑制酶的作用。一般可用乙醇破坏酶的活力，或用硫酸铵等无机盐盐析；使酶沉淀除去。原料最好用新鲜植物经低温(60℃以下)烘干或晒干，将生药粉末在低温下与等量硫酸铵调成糊状后装入布袋，压汁，渣中的原生苷用乙酸乙酯或氯仿等溶剂提取。或者生药粉末直接用乙醇(最好 80%左右)冷浸或加热提取。上述乙酸乙酯、氯仿提取液或醇提取液减压浓缩后，加水，过滤，滤液进一步用下述几种方法提纯：

(1) 铅盐法

滤液先用乙醚提去其中叶绿素和油脂等杂质，然后加饱和乙酸铅水溶液至不再产生沉淀为止。过滤，滤液加适量乙醇使成 50% 的浓度，按常法用饱和硫酸钠水溶液、稀硫酸或通硫化氢脱铅。实验室小量试验时，可用新鲜配制的氢氧化铅混悬液，这样滤液中剩余的铅离子很少，也不像使用乙酸铅时，滤液脱铅后有过量的乙酸。有时滤液不经脱铅处理，浓缩至小体积也能得总苷。

(2) 吸附法

滤液用新煅烧的氧化镁或活性炭吸附，再用甲醇或其他适当溶剂解析，浓缩即得总苷。有时先用铅盐法或溶剂法处理后，再用吸附剂吸附纯化。

(3) 溶剂法

滤液用氯仿等极性小的溶剂洗涤以除去脂溶性杂质，然后加乙醇使成 20% 左右浓度，再加氯仿或乙酸乙酯提取，蒸干提取液即得总苷。

二、次生苷的提取

一些次生苷的药理作用与原生苷相仿(如地高辛和西地兰)。次生苷的提取远比原生苷简便，也不需要顾虑植物储存中的酶解破坏作用。通常先利用植物中的酶自行水解后再进行提取，即将生药粉末加等量水拌匀湿润后，在 40℃保持 6～12 h 以上，进行发酵酶解，然后用乙酸乙酯或乙醇等按上述提取原生苷方法提取和纯化即得次生苷。也可先提出原生苷再进行酶解。即将原生苷单体或总苷的水溶液加原植物中分离出来的酶(一般为原植物用水低温浸泡的提取液)或其他来源性质相同的酶［如能酶解 β-D-葡萄糖苷的苦杏仁

酶(emulsin)],在 40℃ 保持 6～12 h 以上,使酶解完全后用有机溶剂提取,即得相应的次生苷。

如果供提取的原料是种子,则在种子磨碎后先压榨去油,再用石油醚脱脂,然后用上述方法提取。

三、强心苷的分离和纯化

上述方法所得总苷,一般应先选择适当溶剂进行多次分步结晶以分离纯品(如地高辛的纯化),或者反复用分配分离法,即利用混合苷中各单体在两种互不相混的溶剂中分配系数不同而进行分离。

实验室小量制备时可用层析方法分离,常用硅胶层析和分配层析。

早期,Stoll 等曾细致研究过硅胶层析分离各种海葱苷,洋地黄苷与毒毛旋花素苷的条件,硅胶中水的含量对分离各种苷的影响,并用人工混合的苷与植物中含的混合苷的分离进行了比较,认为随着硅胶中含水量的减少,将增加混合苷的分配能力。但水分过少又会使各流分成分减少,拉长了分离的时间。有时可用提高溶剂中甲醇含量的方法使成分集中。如分离毛花洋地黄甲、乙、丙混合苷 55.7 mg 时,用水饱和的硅胶(样品量 100 倍左右)层析,水饱和的乙酸乙酯(含 0.5% MeOH)洗脱,总共用去 250～300 mL 的溶剂即能使三个苷分别分离。总计收集 54.6 mg[1]。

第五节 强心苷的结构

强心苷由苷元与糖原组成,苷元有时易受酸或酶异构化,糖原则易遭酸或酶水解,由于许多植物本身就含有产生酶解或异构化的酶,因此过去文献对同一植物中分得的苷经常出现相互矛盾的报道。现在这些问题已经阐明,现分别按糖原与苷元阐明结构。

一、强心苷的糖原

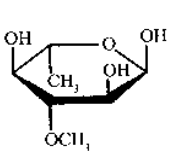
大多数强心苷可用下列通式表示:

1)R-*O*-(D-*O*-)$_{1\text{-}3}$-(末端葡萄糖-*O*-)$_{1\text{-}2}$-H

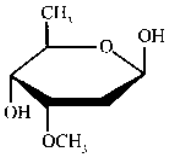
2)R-*O*-(D-*O*-)$_{1\text{-}3}$-H

3)R-*O*-(末端葡萄糖-*O*-)-H　　R=苷元　D=脱氧糖

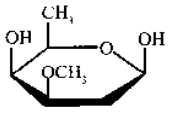
由上式可见,苷元如同时接有脱氧糖与葡萄糖,则脱氧糖总是直接与苷元相连;而后再接葡萄糖。也有的仅接脱氧糖或葡萄糖。与其他植物成分的苷不同,强心苷除含有常见的葡萄糖、鼠李糖等以外,经常含有许多特有的脱氧糖。到目前为止已发现的强心苷中所有脱氧糖都是甲基己糖(hexomethylose,即 6-脱氧糖或甲基五碳糖)或 C-3 羟基甲基化,或 C-2 还原糖(2-脱氧甲基己糖,2,6-二脱氧糖,2-脱氧甲基戊糖)或两种变化同时出现,也有一些糖原上连有乙酰基,常见的脱氧糖除上表已列举过的洋地黄毒糖与加拿大麻糖与 L-夹竹桃糖外,尚有 L-黄夹糖(thevetose,**10**)、D-沙门糖(sarmentose,**11**)及 D-地芰糖(diginose,**12**)等多种。



10



11



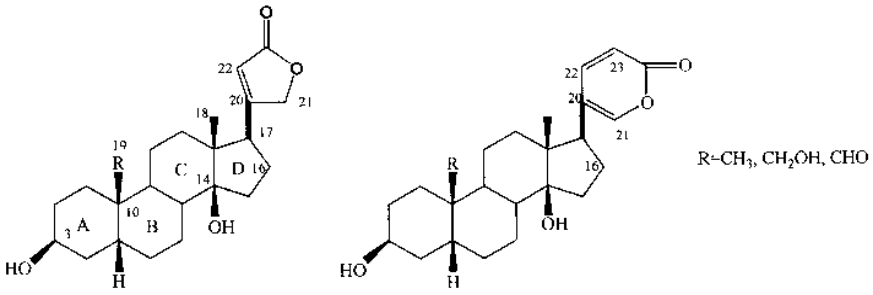
12

当利用植物本身的酶或其他酶酶解时,一般先酶解掉末位的葡萄糖,产生仅含脱氧糖或葡萄糖的苷元,与苷元直接相连的葡萄糖一般不易为植物所含的酶酶解,如强心苷含鼠李糖或黄夹糖时则需选择其他酶(如纤维素酶、蜗牛酶)。由于许多酶对酶解的糖有选择性,因此可用以确定糖的构型。如苦杏仁酶能酶解 β-D-葡萄糖,称为 β-葡萄糖苷酶。由于酶解的产生,所以欲提取原生苷时应先抑制植物中所含的酶,常用硫酸铵等中性盐或酒精来抑制。酶解只水解部分而不是全部糖,所以还得再用酸水解才能得到苷元,同时还必须考

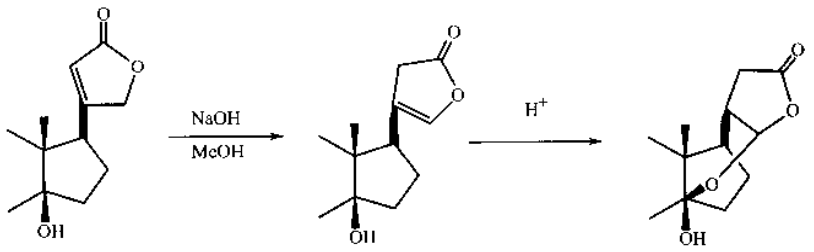
虑酸可能产生的异构化的影响。如苷元与2-脱氧糖相连，Keller-Killiani反应阳性，这类苷水解后往往苷元很完整，而且糖之间的键比较稳定，所以还能同时得到完整的以低聚糖形式存在的糖原。如苷元与甲基戊糖(6-脱氧糖或葡萄糖)相连，Killer-Killiani反应阴性，这时酶解比较困难。如用酸水解，则要注意苷元变化的可能性，糖原往往不很完整。为尽可能避免酸对苷元引起的变化，一般采用稀酸(0.02～0.05 mol/L的水、甲醇或丙酮溶液的H_2SO_4或HCl)加热水解，水解液中和(如用H_2SO_4，则加$BaCO_3$使成$BaSO_4$沉出)后减压抽干，再分别分离苷元(常用有机溶剂提出)与糖原。糖原部分可用气质联用仪或硅胶TLC或纸层析检查。苷元或次级苷元部分则用硅胶层析分离。

二、强心苷的苷元

强心苷苷元的甾体骨架C-17位连有不饱和五元或六元内酯环，均为β型；C-3 OH大多为β型，连有六碳糖；C-10大多为甲基，少数为CH_2OH或CHO，均为β型。此外尚含1-3个羟基，一般位于C-3、C-14、C-16等位，少数化合物C-5也有羟基。A/B环大多为顺式，B/C环为反式，C/D环为顺式。其结构式如下：



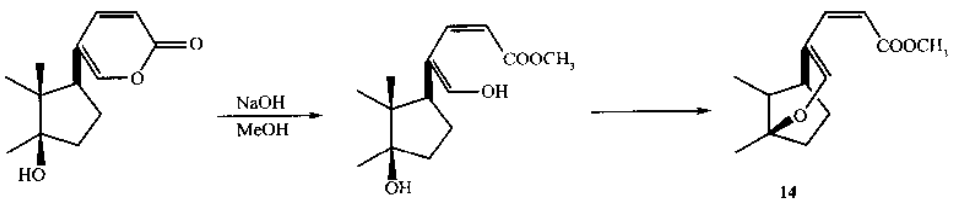
在碱水作用下内酯开环，加酸后又闭环，但如用醇碱开环，则加酸后不能还原，而重排成异构体，双键先从α,β位移至β,γ位，再与C-14 OH连成环醚(**13**)：



13

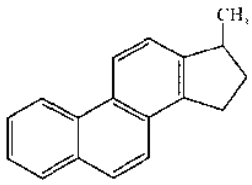
有时植物中除含酶解苷的酶外还含有使苷异构化成无生理作用的别式(alloform)强心苷的酶，这时它的C-17上的内酯环是α位，在醇碱作用下它不产生上述环醚的异构体。由此也旁证了C-17内酯环与C-14羟基为顺式，均为β型。

双不饱和六元内酯环同样能为碱开环，酸闭环还原，而在醇碱作用下则生成酯(如用甲醇则成甲酯)，游离出来的烯醇再脱水并与C-14羟基环合成氧环化合物的异构体(**14**)，同时失去生理活性：



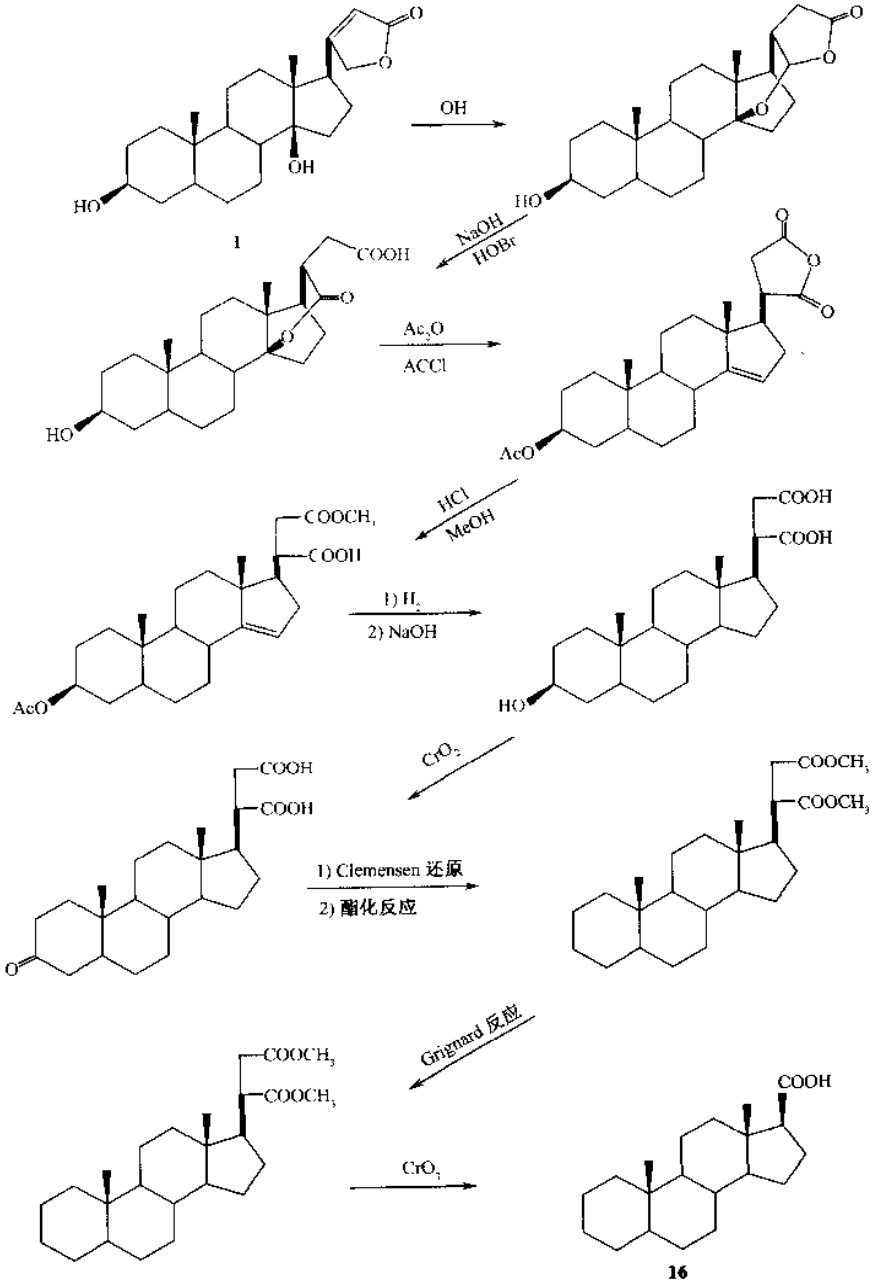
14

强心苷的苷元结构最早是通过硒粉脱氢得到 Diels 烃(**15**)证明其甾体骨架的。



15

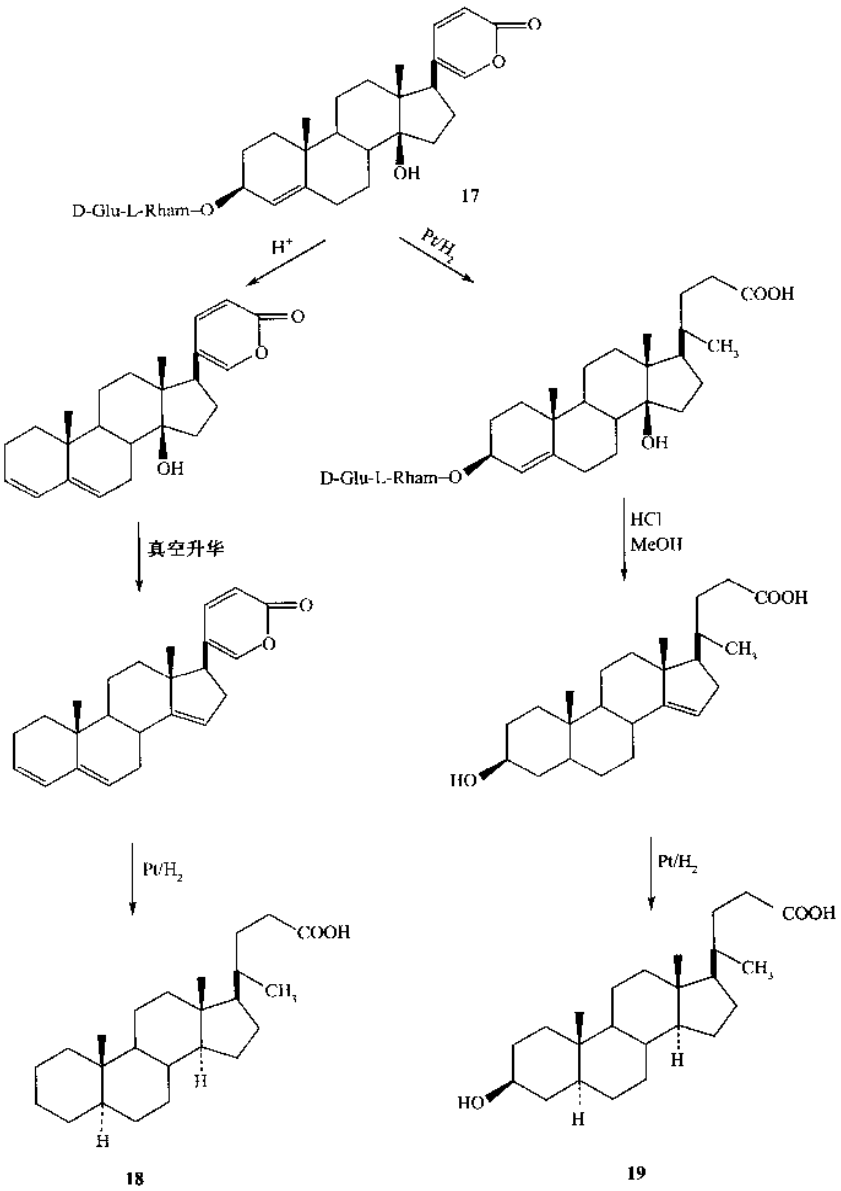
下面再列举洋地黄毒苷元(**1**)经多步化学反应转成甾基甲酸(**16**)的经典证明方法:



16

1935 年,Stoll 等将海葱苷甲(scillaren A,**17**)经下列反应生成别胆酸(allocholic acid,**18**)与表别石胆酸(epiallo-lithocholic acid,**19**)。这些反应没有使碳原子减少,所以它不仅可证明海葱苷元的甾体骨架,而且证

明了它边键的长度与内酯环的大小。



第六节　强心苷结构的波谱

一、紫外光谱

含 α,β-不饱和 γ-内酯环的强心苷在紫外光谱中显示 220 nm 的强吸收峰。含 $\alpha,\beta,\gamma,\delta$-不饱和 δ-内酯环的强心苷在紫外光谱中显示 300 nm 的强吸收峰。

二、红外光谱

如用 KBr 压片测定，则强心苷及苷元的红外光谱除指纹区的一般吸收峰及 3500 cm^{-1}附近的羟基吸收

峰外在 1600～1800 cm^{-1}区内由不饱和 γ-内酯环显示 1720 cm^{-1}, 1780 cm^{-1}两个强吸收峰, 双不饱和 δ-内酯环显示 1718 cm^{-1}, 1740 cm^{-1}两个强吸收峰。化合物含乙酰基时, 如夹竹桃苷元(**5**)或毛花洋地黄苷乙与苷丙所含的乙酰洋地黄毒糖在 1760 cm^{-1}附近多一个乙酰基吸收峰。酰基化合物, 如毒毛旋花素 K_4, 则在 1725 cm^{-1}附近增加了一个酰基吸收峰。

三、核磁共振谱

1. 氢谱

大多数强心苷苷元(以 C_5D_5N 为溶剂)于 δ 1.00 附近显示两个叔丁基单峰信号。其中 C-18 甲基比C-19 甲基为低。C-3 质子信号位于 δ 3.50(多峰)附近, 如与糖联结成苷, 则向低场移动 0.2 以上。C-19 甲基为醛基取代时, 如化合物**4**, 则于 δ 10.00 附近显示醛基质子信号(单峰)。苷元 C-17 质子信号位于 δ 2.80 附近(多峰), 它与 C-16 两个质子(δ 2.50 附近)信号相偶合。γ-不饱和内酯环的烯质子信号位于 δ 5.80 附近, 而其亚甲基信号位于 δ 4.8 与 δ 5.1(各为双峰 J = 12 Hz)。δ-不饱和内酯环三个质子信号位于 δ 5.00～6.00 附近, 双峰, J 值视 C-2′位质子情况而定, 两个直立键偶合(如葡萄糖)J = 6～8 Hz, 若为两个平伏键偶合(如鼠李糖)J = 1～2 Hz。鼠李糖甲基信号位于 δ 1.50 附近, 双峰, J = 6 Hz。同时可由端基质子的数目测定苷所带糖的数目。

2. 碳谱

大多数苷元甾体母核与常见糖的^{13}C-NMR数据可从参考书中找到。比较时一定要写上测定的溶剂, 现列出**8**～**12** 糖原(甲基糖)与强心苷元**1**～**4** 的^{13}C-NMR数据于表 18-2 和表 18-3[5]。

表 18-2 化合物 8～12 的甲基糖的^{13}C-NMR 数据

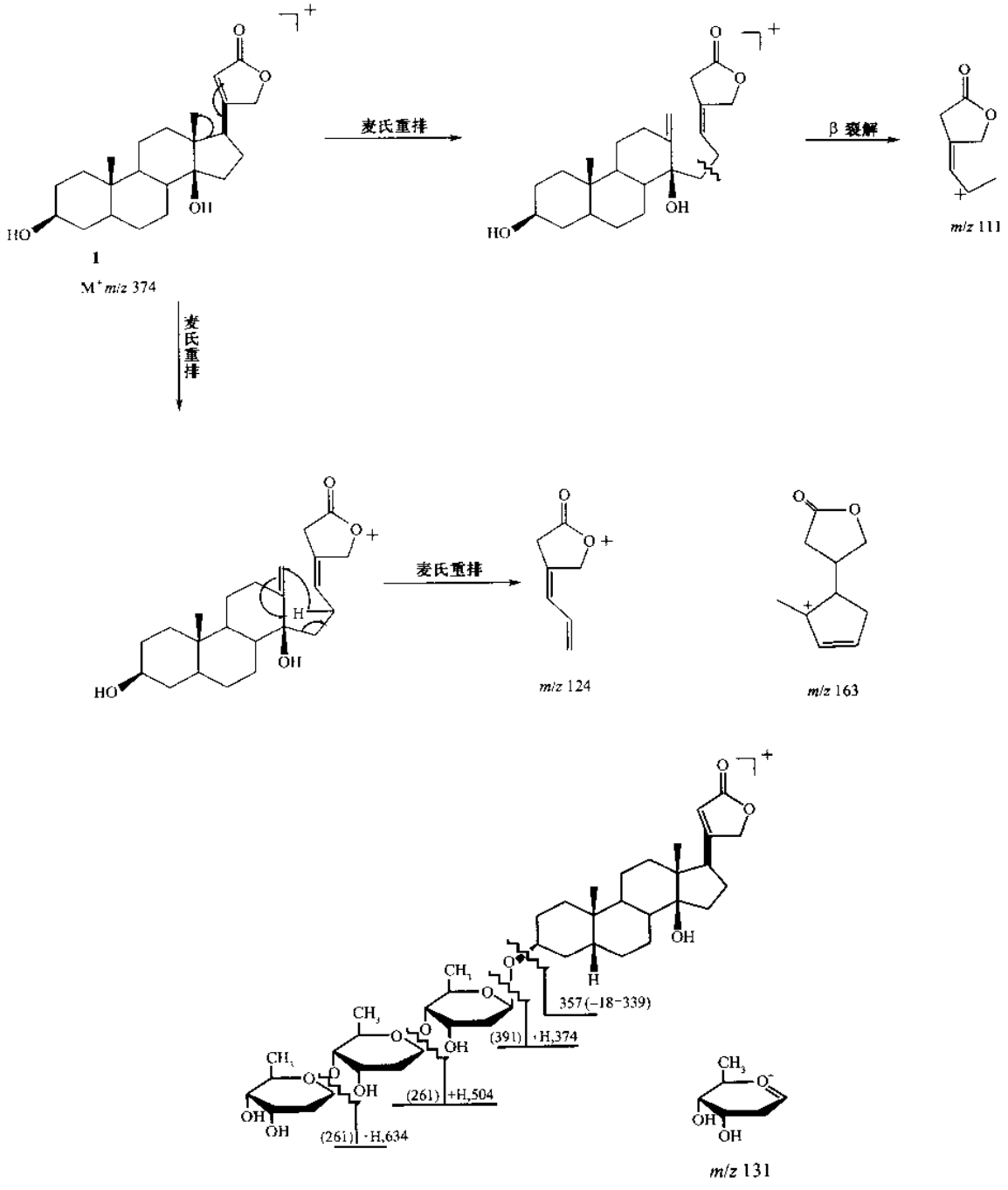
项目	8	9	10	11	12
C-1′	97.6	95.9	98.9	97.3	98.2
C-2′	36.4	35.8	73.8	33.6	33.1
C-3′	78.7	79.3	84.8	80.3	79.1
C-4′	74	77.1	76.6	67.9	67
C-5′	71.1	69.1	68.9	69.9	71.2
C-6′	18.9	18.6	18.5	17.5	17.6
OCH_3	58.1	56.9	60	56.7	55.1

表 18-3 化合物 1～4 苷元的^{13}C-NMR 数据

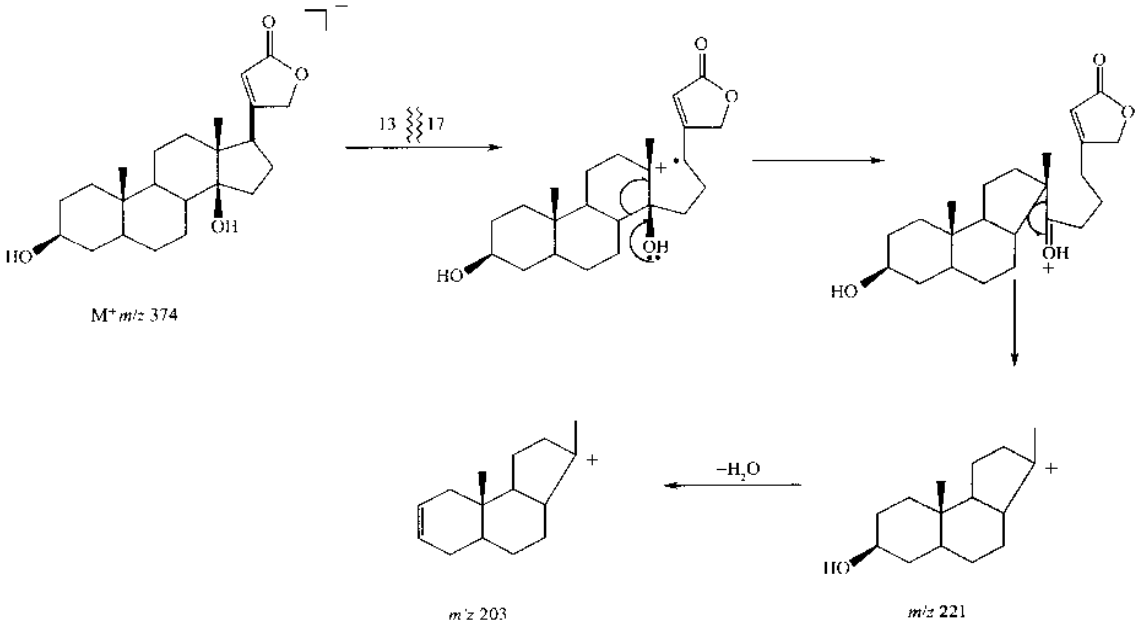
C	1	2	3	4	C	1	2	3	4
1	30	30	30	24.8	13	50.3	50.4	56.4	50.1
2	28	28	27.9	27.4	14	85.6	85.2	85.8	85.3
3	66.8	66.8	66.6	67.2	15	33	42.6	33	32.2
4	35.5	33.5	33.3	38.1	16	27.3	72.8	27.5	27.5
5	35.9	36.4	36.4	75.3	17	51.5	58.8	46.1	51.4
6	27.1	27	26.9	37	18	16.1	16.9	9.4	16.2
7	21.6	21.4	21.9	18.1	19	23.9	23.9	23.8	195.7
8	41.9	41.8	41.3	42.2	20	177.1	171.8	177.1	177.2
9	35.8	35.8	32.6	40.2	21	74.5	76.7	74.6	74.8
10	35.8	35.8	35.5	55.8	22	117.4	119.6	117	117.8
11	21.7	21.9	30	22.8	23	176.3	175.3	176.3	176.6
12	40.4	41.2	74.8	40.2					

3. 质谱

强心苷的质谱比较复杂，苷元的分子离子峰较弱，特征峰较少。一般除分子离子峰外并出现 M-18，M-36等去羟基质子碎片峰。以洋地黄毒苷元(**1**)为例，可见 *m/z* 111、124、163 及强峰 203，但它只是一般甾体化合物 A、B、C 三个环的碎片，并非特征峰。强心苷可见分子离子峰及失水，失糖，再失水产生的碎片，如洋地黄毒苷**20** 可见分子离子峰 *m/z* 634，504，374 等失水，失糖碎片信号。糖分子只有 *m/z* 131 信号，没有看到二糖 *m/z* 261，三糖 *m/z* 391 的信号。

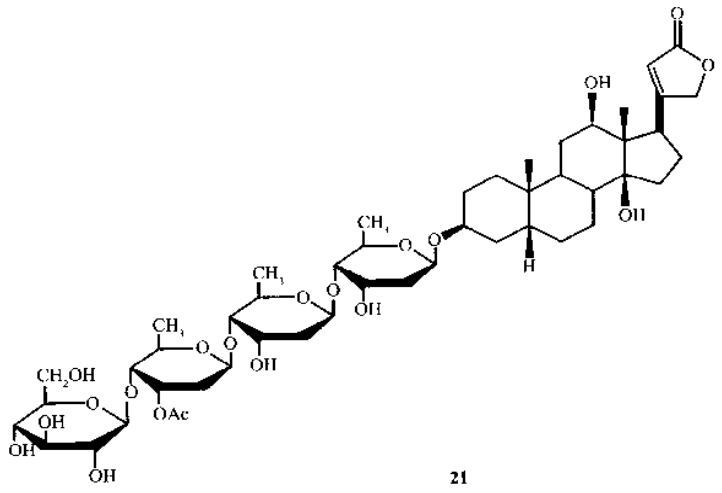


20 M⁺*m/z* 764(0.05%)



第七节 毛花洋地黄毒苷

人们最早研究的是紫花洋地黄(*Digitalis purpurea*),从其叶中曾先后分得强心有效成分紫花洋地黄毒苷甲、乙及其他强心苷30种以上,以后发现毛花羊地黄(*Digitalis lanata*)叶强心作用比紫花的强4倍,进一步的研究发现它们的区别在于毛花洋地黄苷甲与乙比紫花洋地黄毒苷甲、乙在它们的第三个洋地黄毒糖C′-3位多一个乙酰基。此外,它还含有毛花洋地黄叶中特有的毛花洋地黄毒苷丙(lanatoside C,**21**),而且是主要成分,同时它作用快,排泄快,因而很快代替了紫花洋地黄的地位。



21

毛花洋地黄苷甲、乙与苷丙的糖元相同,区别在于苷元有不同的羟基取代。苷甲的C-12位无羟基(**1**)、苷乙C-16位有羟基(**2**)、苷甲、苷乙的强心作用均远较苷丙为弱[2]。

毛花洋地黄毒苷丙的苷元特点是C-12位有一个β-OH基,糖原部分与苷甲、乙相同,在C-3β位上连有三个洋地黄毒糖(其中第三个毒糖C′-3位有乙酰基)与一个末端葡萄糖,所有糖都是1→4位连接。第三个洋地黄毒糖的乙酰基不很稳定,很容易为稀碱水解下来,这就是市售的西地兰强心药,它比较稳定,且溶解度

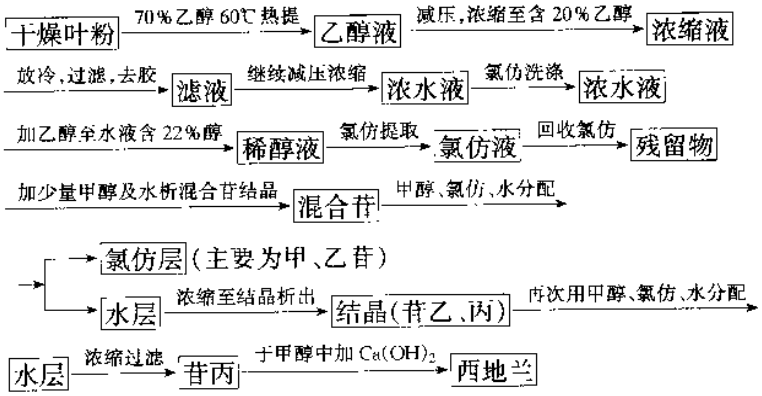
较大，常制成针剂供急救用，起作用时间 20～45 min。如将其末端葡萄糖用植物本身的酶或其他酶水解掉，则为市售的地高辛，它作用较缓慢（起作用时间 1～2 h）而持久，常制成片剂供心脏病患者日常服用。二者都用以治疗急慢性充血性心力衰竭，心房纤维颤动等症。

西地兰易溶于甲醇，微溶于乙醇与水，不溶于氯仿与乙醚。地高辛因少一个葡萄糖，其溶解度较大，可溶于稀乙醇，吡啶及氯仿与乙醇的混合液中，也不溶于氯仿与乙醚。

西地兰与地高辛的提取与分离。这里介绍我们于 1971 年与药厂协作研制的一种比较经济而简便的方法。

一、西地兰的提取

将生药叶磨粉后加 5 倍量 70% 乙醇于 60 ℃ 搅拌加热 2 h，过滤，滤渣再用 3 倍量 70% 乙醇提取两次，提取液合并，减压浓缩到含醇量为 15%～20%，冷却，布袋过滤，滤液减压浓缩到相当于生药量为止，用 1/3 量氯仿洗涤一次，水液加乙醇使含醇量为 22% 左右，氯仿提取三次，每次氯仿用量均为稀醇液的 1/3，提取液合并，减压蒸干至残留物为疏松状。加入少量甲醇及水（10 g 总苷加 3～5 mL 甲醇及 0.25 mL 水），使析出毛花洋地黄苷甲、乙、丙混合苷结晶，加丙酮-乙醚（1∶1）混合液后过滤、洗涤，烘干。流程如下：

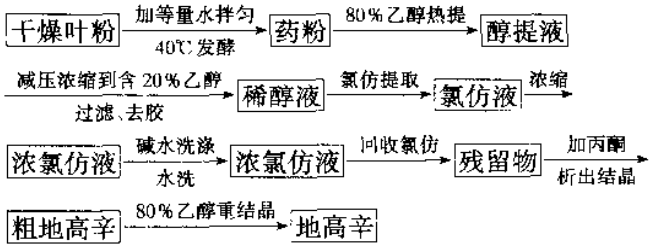


毛花洋地黄苷丙的纯化：按混合苷∶甲醇∶氯仿∶水（1∶100∶500∶500）比例，使混合苷先溶于甲醇，过滤，滤液加氯仿与水振摇，静置分层，氯仿层主要含甲、乙苷，水层主要为乙、丙苷，取水层减压浓缩至少量，放冷，即析出乙、丙混合苷粉末，过滤后再按上述比例重复一次，所得的水层浓缩后即得苷丙。氯仿层中的甲、乙苷另行处理。

苷丙脱乙酰基：取苷丙 3 g，溶于 5 倍量甲醇加等量新鲜配制的 0.15% 氢氧化钙水溶液，放置室温过夜，次日如 pH 为 7.0（否则加 1% HCl 调至中性），即减浓缩至少量，析出西地兰结晶，甲醇重结晶，熔点 265 ℃（分解）。

二、地高辛的提取

干燥叶粉加等量水拌匀，保持 40～50 ℃ 发酵酶解 20 h 左右，每两三小时翻动一次，然后分别用 4 倍及 3 倍量 80% 乙醇回流搅拌提取两次，每次 2 h，冷却，过滤，滤液合并减压浓缩到约含 20% 乙醇，放冷，析出叶绿素等胶质，用布袋滤取上层清液，滤液用氯仿提取三次，每次用量为水液的 1/5。合并氯仿液，浓缩到生药量 1/5 左右，用 10% 氢氧化钠水液洗涤数次，每次为氯仿的 1/10，以脱去乙酰基，并去除残留叶绿素等杂质，至碱液基本无色为止。最后用 1% 氢氧化钠溶液洗一次，再用水洗到中性，将氯仿液蒸干，所得残留物用少量丙酮溶解，静置过夜。析出的地高辛用 80% 乙醇（并加少量活性炭脱色），重结晶一、二次，即得纯品。流程如下：

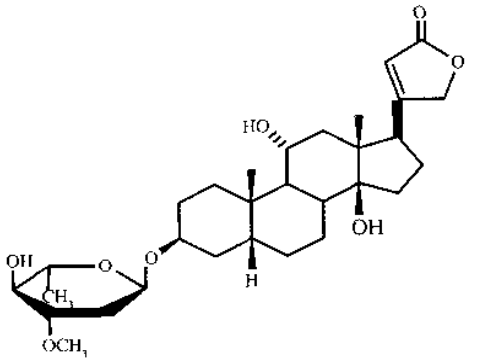


如用乙酸乙酯代替乙醇提取西地兰和地高辛，则所得产品较纯，纯化手续更简便，得率也较高，但是用乙醇经济安全，所以常为中国工业上采用。

这里洋地黄毒糖上的乙酰基在碱液洗涤过程中已水解掉，最后所得的次生苷总苷利用植物中所含各种苷在80% 乙醇中的溶解度不同（洋地黄毒苷易溶，地高辛次之，羟基洋地黄毒苷难溶）而反复重结晶纯化之。

第八节 羊角拗强心苷

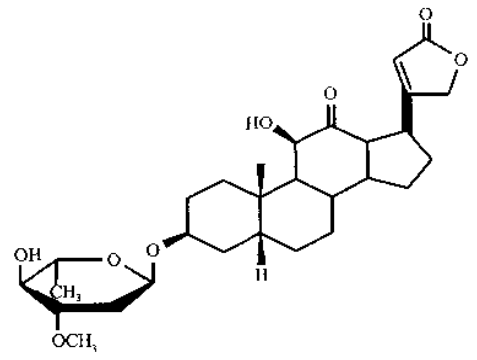
羊角拗[*Strophanthus divaricatus*(Lour.)Hook.et Arn.]是生长在我国南方各省的一种野生植物，也是惟一的国产毒毛旋花属植物。其种子含强心苷约2%以上，主要为羊角拗苷(divaricoside，**22**)，熔点221～226 ℃，$[\alpha]_D$ −32.6°(MeOH)。



22

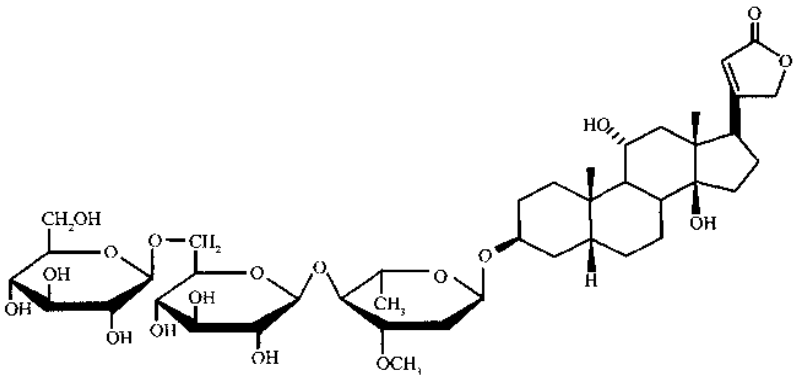
苷元是沙门苷元(sarmentogenin)，C-11位上有α羟基，C-3位连有L-夹竹桃糖，其强心作用与进口的毒毛旋花苷k相仿。

羊角拗种子中尚含有异羊角拗苷(divastroside)，苷元相同，但糖原是L-地茭糖；辛诺苷(sinoside，**23**)与异辛诺苷(sinotroside)，苷元均为辛诺苷元(sinogenin)，也分别与L-夹竹糖及L-地茭糖相连。

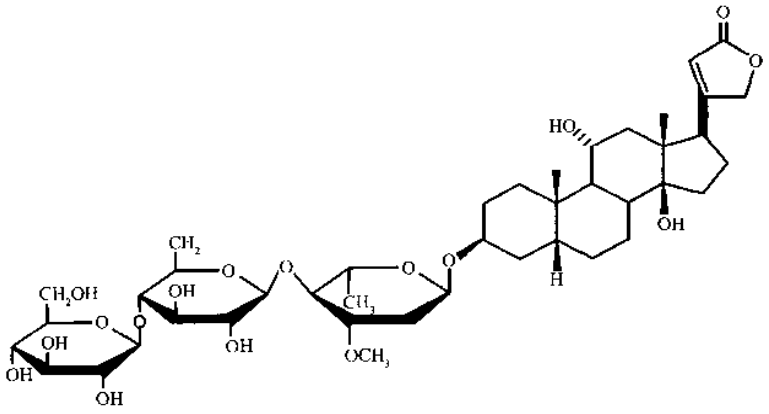


23

如羊角拗种子不经过酶解，所得总苷含量约7%，从中分出羊角拗质，毒毛旋花素苷-Ⅰ(D-strophanthin Ⅰ)，熔点191 ℃，$[\alpha]_D$ -29.4°(EtOH)；苷-Ⅱ(D-strophanthin Ⅱ)，熔点177 ℃，$[\alpha]_D$ -59.2°(EtOH)；苷-Ⅲ(D-strophanthin Ⅲ)，熔点185 ℃，$[\alpha]_D$ -89°(EtOH)。苷-Ⅰ是羊角拗苷的L-夹竹桃糖C′-4位连一个葡萄糖。苷-Ⅲ(**24**)是苷-Ⅰ葡萄糖的C′-6位再接一个葡萄糖，它应是原生苷，而苷-Ⅱ(**25**)则是苷-Ⅰ葡萄糖的C′-4位再接一个葡萄糖，也是一种原生苷。其中苷-Ⅰ强心效力最强。分离方法参见文献[3～5]。



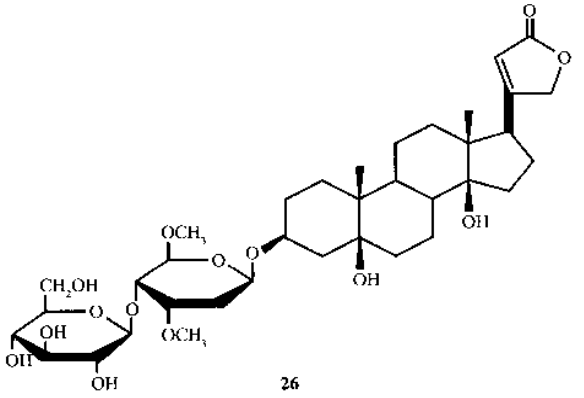
24



25

第九节　杠　柳　苷

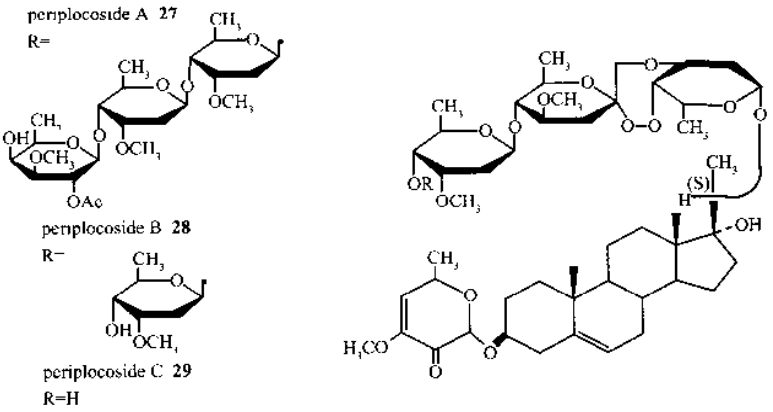
杠柳是萝藦科(Asclepiadaceae)*Periploca sepium* Bge的根皮，民间常误用替代五加皮。五加皮为常用中药，我国常用五加皮有两种，即湖北、河南等地的南五加或称细柱五加(*Acanthopanax gracilistylus* W. W. Smith)与东北各省的刺五加(*Acanthopanax senticosus* Max. 或 *Eleutherococcus senticosus* Max.)的根皮，均属五加科，与杠柳完全不同科属。由于杠柳根皮浸酒后酒色微红，饮后有轻微的心脏兴奋作用，因此误受欢迎。Sakuma等研究发现其中含杠柳苷(beiwujiapi glycoside)A、B、C等多种配糖体，其中杠柳苷G为强心苷，有毒，这与多饮用杠柳根皮加工的"五加皮酒"引起中毒是一致的，所以必须引起中药材人员的重视。杠柳苷G(periplocin)，$C_{36}H_{56}O_{13}$，熔点232～233 ℃，$[\alpha]_D$ +30.2°(EtOH)，紫外吸收217(lgε 4.16)nm，红外吸收1620 cm^{-1}，1735 cm^{-1}，1790 cm^{-1}(弱)、3500 cm^{-1}。提示含α，β-不饱和-γ-内酯环的配糖体，结构经证明为(**26**)，即杠柳苷元(periplogenin)C-3位连有β-D-大麻糖与β-D-葡萄糖。



26

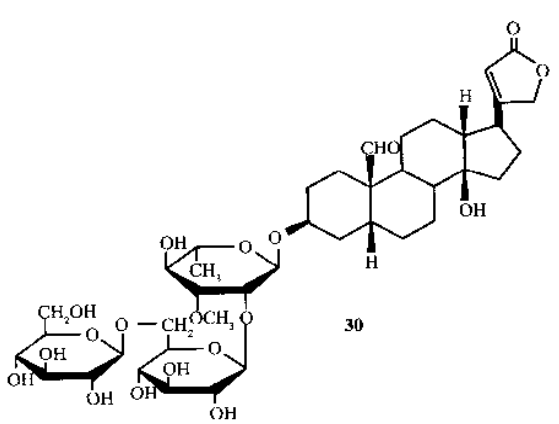
将杠柳苷用 0.05 mol/L H_2SO_4 或 kiliani mixture(HOAc:H_2O:浓 HCl 3.5:5.5:1)水解得苷元连有 β-D-大麻糖的次级苷与葡萄糖。次级苷再用 0.05 mol/L H_2SO_4 的甲醇溶液加热水解得苷元与大麻糖。杠柳苷也可用 takadiastase-A 酶在 34 ℃酶解 12 天得次级苷与葡萄糖。苷 C-3 位所连葡萄糖与大麻糖的端基质子信号分别为 δ 5.14(d, J = 7)与 δ 4.88(q, J = 3.9),则证明均为 β-D-糖[6, 7]。

最近又报道从中分离得到了杠柳新苷(periplocoside)A (**27**)、B (**28**)、C (**29**)等新配糖体[8, 9]。

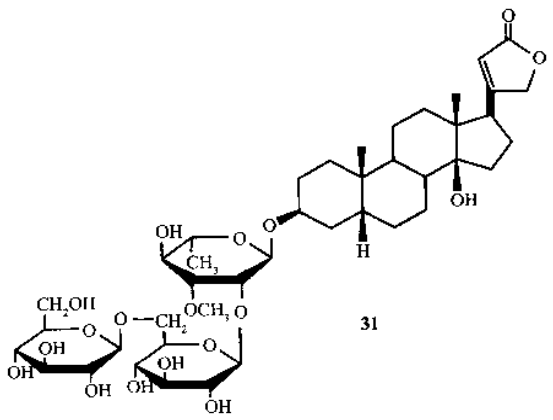


第十节 黄花夹竹桃苷

孙南君等从夹竹桃科黄花夹竹桃(*Thevetia peruviana* Merr.)的果仁中分离得到两个强心苷:黄夹苷甲(thevetin A, **30**),熔点 192 ℃,$[\alpha]_D$ −75°(MeOH),含量约 1.26%;苷乙(thevetin B, **31**),熔点 195 ℃,$[\alpha]_D$ −57°(MeOH),含量 2.04%。苷甲是苷元 cannogenin C-3 位连有 L-黄夹糖与两个葡萄糖,苷乙是洋地黄苷元 C-3 位与苷甲相同,连有一个 L-黄夹糖与两个 D-葡萄糖[10]。

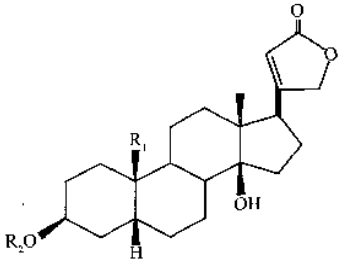


30



31

市售商品"强心灵"是黄花夹竹桃果仁用发酵方法制得的混合次级苷总苷。从该总苷可分离得到五个苷，除上述苷甲、苷乙均被酶解掉二个葡萄糖称为黄夹次苷甲(peruvoside)，次苷乙(herifolin)外，尚有乙酰黄夹次苷乙(cerberin，**32**)，黄夹次苷丙(ruvoside，**33**)与黄夹次苷丁(perusitin，**34**)。



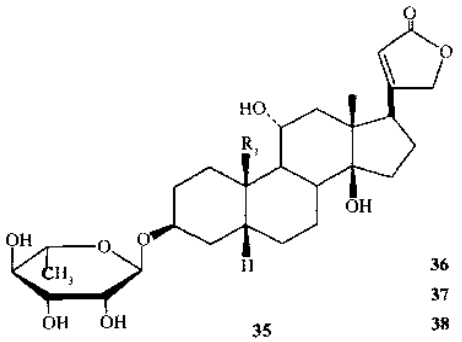
32 $R_1 = CH_3$, R_2 = L-acetylthevetose

33 $R_1 = CH_2OH$, R_1 = L-thevetose

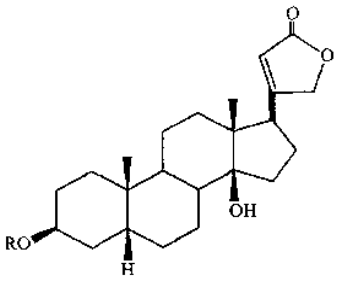
34 $R_1 = COOH$, R_2 = L-thevetose

第十一节　万　年　青

中药万年青(*Rhodea japonica* Roth)的根皮叶中含强心苷万年青苷甲(rhodexin A，**35**)，熔点 265 ℃，$[\alpha]_D$ −20°(EtOH)；苷乙(rhodexin B，**36**)，熔点 262 ℃，$[\alpha]_D$ −39.5°(EtOH)；苷丙(rhodexin C，**37**)，熔点 275 ℃，$[\alpha]_D$ −17.7°(EtOH)及苷丁(rhodexin D，**37**)，熔点 184 ℃。苷甲为沙门苷元(sarmentogenin)的 C-3 位连有 L-鼠李糖、苷乙、丙、丁均为夹竹桃苷元(oleandrigenin)连有鼠李糖或葡萄糖或二者皆有[11]。



35



36 R = α-L-rhamnose

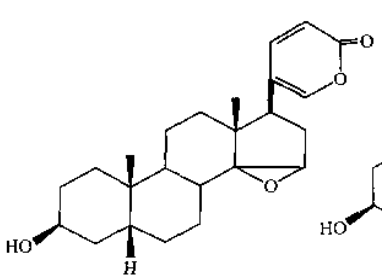
37 R = α-L-rhamnose-*O*-β-D-glucose

38 R = β-D-rhamnose-*O*-β-D-glucose

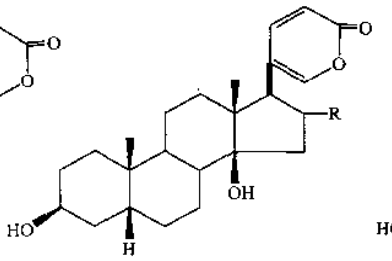
第十二节　蟾　酥　毒

蟾酥是各种蟾酥，如中华大蟾酥(*Bufo bufo gargarizans* Cantor)、黑眶蟾酥(*Bufo melanostictus* Schneid.)等的耳后腺及皮肤腺所分泌的白色浆液，经收集晒干加工而得的半透明片状胶质块，有毒，为常用中药，用于治疗痔疮、痈毒等症，也有报道抗肿瘤作用。

蟾酥的氯仿提取液经硅胶层拆后分得十多种蟾蜍毒素，大部分为含 α，β，γ，δ-不饱和六元内酯环的甾族强心苷元，也有强心作用。主要成分为脂蟾毒苷元(kesibufogenin，**39**)，其次为蟾毒它灵(bufotalin，**40**)、蟾毒灵(bufalin，**41**)与嚏根草苷元(hellebrigenin，**42**)等三种类型化合物[12]。它们以 C-3 OH 与辛二酸[HOOC-$(CH_2)_6$-COOH]结合成酯存在于蟾蜍体内，其中**42** C-10 上带醛基，强心作用较强。

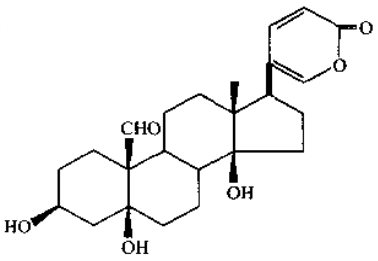


39



40 R=$OCOCH_3$

41 R=H



42

参考书目

林启寿.中草药成分化学.北京:科学出版社,1977

徐任生,陈仲良.中草药有效成分的提取与分离.第二版.上海:上海科技出版社,1982

Stoll A, Jucker E. Herzglykoside in Modern Methoden der Pflanzenanalyse, Ed III. Berlin: Springer-Verlay, 1955～1961

Dean F M. Naturally Occuring Oxygen Ring Compounds, Butterworth. London, New York, 1963

龚运淮.天然有机化合物的核磁共振化学位移.昆明:云南科学出版社,1986

丛浦珠.质谱学在天然有机化学中的应用.北京:科学出版社,1987

参考文献

[1] Stoll A. Helv Chim Acta, 1951, 34: 1460

[2] Stoll A et al. Helv Chim Acta, 1933, 16: 1049

[3] 林启寿.中草药成分化学.北京:科学出版社,1977,379

[4] 朱任宏.中国生理学杂志,1940,15:309

[5] 徐铁铮.药学通报,1958,6:266

[6] Sakuma S. Chem Pharm Bull, 1971, 19: 52

[7] Sakuma S. Chem Pharm Bull, 1972, 20: 469

[8] Itokawa H et al. Chem Pharm Bull, 1988, 36: 982, 2084, 4441

[9] Itokawa H et al. Phytochemistry, 1988, 27: 1173

[10] 孙南君.药学学报,1964,11:464

[11] Mitsuhashi H et al Chem Pharm Bull, 1971, 19: 281

[12] Hariger N et al. Helv Chim Acta, 1969, 52: 1097

(徐任生)

第十九章　其他生物活性天然化合物

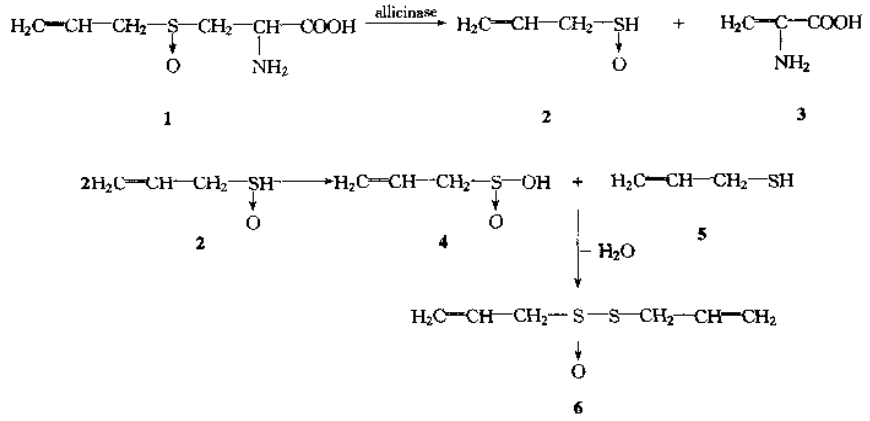
本章纳入的化合物，均为未能归入上述各章的一些较重要的具有生物活性的天然化合物。

第一节　含硫化合物

含硫天然化合物是比较不常见的一类化合物。一些具臭味的植物如大蒜、葱、韭菜、芥子等与中草药都含有硫化物。许多十字花科植物，如松蓝（在中药中其叶称大青叶，其根称板蓝根）、葶苈子、萝卜、荠菜等也都含硫因而有些异味。这些含硫化合物一般都具有生物活性，应给予重视。

一、蒜辣素与二烯丙基三硫

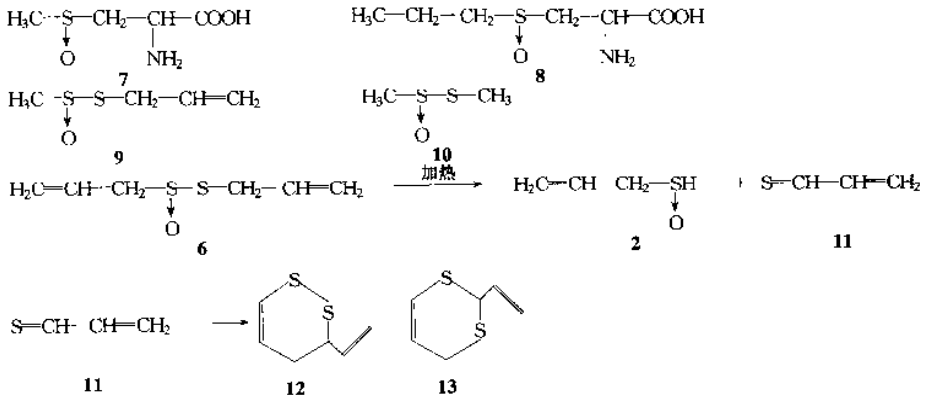
大蒜（*Allium sativum*）是众所周知的保健食品，也是一味常用中药，有悠久的应用历史，具抗菌、消炎、抗原虫、降血脂及防治肿瘤等功能。大蒜本身并无臭味，但在粉碎与加工过程中产生蒜辣素（**6**，allicin，二烯丙基硫代亚磺酸酯，diallyldisulfide oxide）具有臭味。蒜辣素是大蒜的主要抗菌成分。一般认为，蒜辣素产生的过程是大蒜粉碎后其所含不稳定的蒜氨酸（alliin，**1**）或（+）-*S*-烯丙基半胱氨酸亚砜［(+)-S -allylsysteine-S-oxide］经蒜酶（allicinase）分解成烯丙次磺酸（allyl-sulfenic acid，**2**），再进一步生成烯丙亚磺酸（allyl-sulfinic acid，**4**）与烯丙硫醇（allylmercaptan，**5**），它们继续失水生成具有臭辣味的蒜辣素[1]。



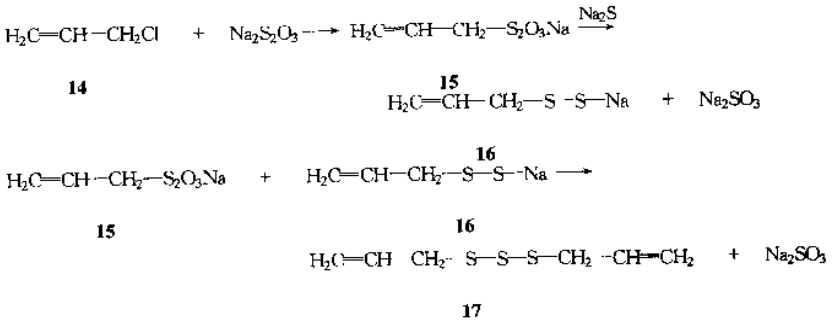
蒜氨酸为针状结晶，熔点 164～166 ℃，$[\alpha]_D^{20}$ + 63.5°（*c*2，H_2O）；蒜辣素为油状，d_4^{20} 1.112，n_D^{20} 1.561，pH = 6.5。

1975 年，Treeman 等证实蒜氨酸由 85% 蒜氨酸，13% *S*-甲基半胱氨酸亚砜（**7**）与 2% *S*-丙基半胱氨酸亚砜（**8**）组成。在蒜酶作用下，这些混合物产生硫代甲亚磺酸-*S*-烯丙酯（**9**），硫代甲亚磺酸-*S*-甲酯（**10**）及其他硫代亚磺酸酯 R-SO-S-R′（R，R′分别为甲基、丙基、烯丙基等）[2]。蒜辣素遇热分解成烯丙次磺酸与烯丙硫醛（**11**），后者在常温下发生 Diels-Alder 反应，二聚成 1，2 二硫杂-5-环己烯（**12**），2-乙烯-1，3-二硫杂-5-环己烯（**13**）等[3]。

1996 年，张学俊等认为，蒜氨酸不应是较稳定的亚砜结构，而可能是易氧化分解的硫醚结构（*S*-烯丙基-L-半胱氨酸），它与蒜酶结合空气中的氧立即氧化成亚砜[4]。大蒜中的硫化物有多种报道，这主要是由于硫化物的不稳定而产生各种分解产物及聚合物之故。



郎彝江等发现大蒜中抗真菌成分应是较稳定的二烯丙基三硫(diallyltrisulfide,**17**),称之为大蒜新素。将 50 kg 大蒜粉碎后加等量水,经水蒸气蒸馏,用冰盐水冷却蒸馏液,分出大蒜油 (170 g),再进一步蒸馏收集 85～100 ℃/1 mm 馏分(120 g),经分析主要为二烯丙基三硫 (含量在 40% 左右,n_D^{20} 1.572～1.582)。合成证明[5]二烯丙基三硫的结构,烯丙氯(**14**)与硫代硫酸钠反应得烯丙硫代硫酸钠(**15**),**15** 与硫化钠作用得烯丙二硫钠 **16**,**15** 与 **16** 反应得 **17**。



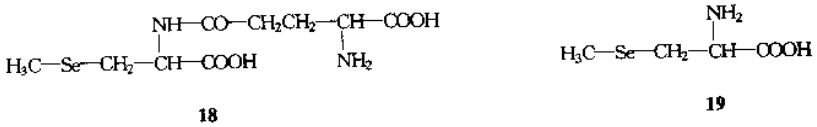
二烯丙基三硫的质谱 m/z 178 (M^+)、146、118、105($CH_2=CH-CH_2-S_2^+$)、73($CH_2=CH-CH_2-S^+$)、41($CH_2=CH-CH_2^+$)。其 ^{1}H-NMR 谱,δ 3.48 (4H, CH_2—S—)、5.22 (4H,—CH $=CH_2$)、5.82 (2H,—CH $=CH_2$),红外光谱 ν 830 (—CH $=CH_2$)、1000 (—CH=)、3100 cm^{-1}(=CH—)。

质谱是分析鉴定大蒜各成分的主要工具,除分子离子峰外还可以从质谱碎片的分析协助鉴定结构,GC-MS 既可分离各成分又可鉴定各成分的结构[6]。但由于 GC 是在高温下操作,难以测定遇热不稳定的化合物,因而目前有采用反相 HPLC 直接测定各类成分,如烯丙基半光氨亚砜、γ-L-谷氨酰基 *S*-烷烯-L-半胱氨酸、5-烷(烯)基-L-半胱氨酸亚砜等[7,8]。

上海天丰药厂生产的大蒜新素针剂已广泛用于治疗白色念珠菌、隐球菌等真菌疾病,也用于治疗呼吸道感染、消化道感染、脑膜炎等细菌性疾病。

无臭大蒜已逐渐在工业中生产。常见的方法是采用微波及柠檬酸调节 pH,大蒜粉碎后用明矾 0.03% 的 pH=4.0 柠檬酸溶液浸泡 2 h,然后放入微波炉 850 W 处理 3～4 min,取出迅速冷却。这种无臭大蒜被认为除臭完全,有效成分存留率高[9]。

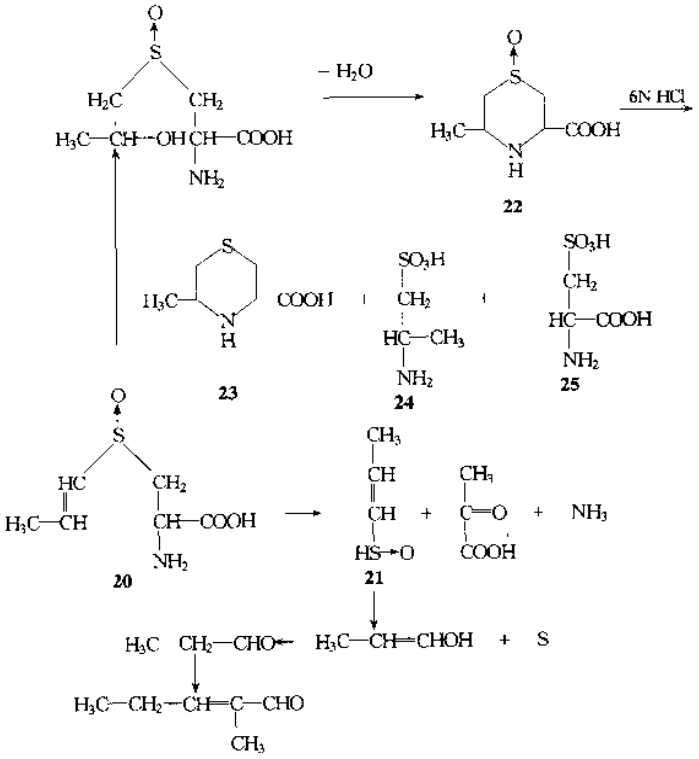
最近 Clement Ip 研究组报道大蒜中抗癌成分是含硒的氨基酸,γ-谷氨酰基-硒-甲基硒半胱氨酸(**18**,γ-glutamyl-Se-methyl-seleno cystein,GGMSC),口服后 GGMSC 在体内酶解成已知的防癌抗癌硒化合物,硒-甲基硒半胱氨酸(**19**,Se-methylselenocysteine, MSC),但在体内 **18** 和 **19** 的抗癌作用基本相同。GGMSC 口服后吸收很好,硒很快分布在体内各组织,最后通过尿液排出[10,11]。



天然大蒜中含硒量在 $100\times10^{-6}\sim300\times10^{-6}$，而用过含硒盐肥料生长的大蒜含硒量可增加到 1000×10^{-6} 以上。

二、大葱与洋葱中的活性化合物

大葱（*Allium fistulosum*）和洋葱（*A. cepa*）所含成分是不很稳定的丙烯半胱氨酸亚砜{**20**，[(+)-*S*-prop-1-enyl-L-systeine-*S*-oxide]}。**20** 经酶解生成臭味的丙烯基次磺酸（**21**，prop-1-enylsulfenic acid）。在碱性的条件下**20** 生成蒜氨酸的异构体环蒜氨酸（cycloalliin，**22**）。在 6mol/L HCl 条件下**22** 可生成噻嗪化合物（**23**），2-甲基牛磺酸（2-methyltaurine，**24**）与磺基丙氨酸（cysteic acid，**25**）[12,13]。**21** 也能再次分解成丙烯醇，丙醛及甲基戊烯醛等。



此外，韭菜（*Allium tuberosum*）也含蒜氨酸等含硫化合物[14]。

三、蕺　菜　素[15]

蕺菜素（rorifone，**23**）是从中药十字花科蕺菜（也称江剪刀草 *Roripa montana*）中分离得到的有效成分，具化痰与止咳功效。

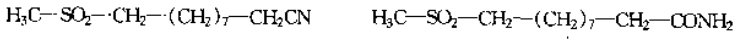
经谱学分析其结构为含砜基与氰基的长链烃基化合物。$C_{11}H_{21}O_2NS$，针状结晶，熔点 45～46 ℃。此结构并为合成所证明。

蕺菜素为中性化合物，不溶于酸水与碱水，能溶于乙醇，遇碘化铋钾试剂显橙红色。

蕺菜素提取方法为：蕺菜粉碎后加水浸泡，煮沸 1.5 h，滤取提取液，药渣再用水煮沸提取 1 h，合并二次水提取液，浓缩至草药量的 1/3，过滤，加乙醇使含醇量达 75%。乙醇溶液浓缩至草药量的 1/10，加等量水低温放置，析出的沉淀用 0.1mol/L NaOH 溶液洗涤 2 次，再用水洗至中性即得蕺菜素粗品。粗品用氯仿溶解，蒸干后再用乙醇反复结晶，得率约 0.2%。粗品也可用硅胶柱色谱，乙酸乙酯洗脱，收集碘化铋钾显橙红色部位，用乙醇重结晶。

薤菜素的红外光谱显示 ν 2240(—CN)、1312 cm^{-1}、1290 cm^{-1}、1132 cm^{-1}(—SO_2);^{1}H-NMR谱:δ 2.90(3H, S,—CH_3)、3.03(2H, t, —CH_2—CH_3)、1.30～1.90(14H, m,—CH_2×7)、2.34(2H, t,—CH_2CN)。其 EIMS: m/z 232 (M^++1)、216(M^+—CH_3)、79($CH_3SO_2^+$)及 152、138、124、110、96、82、68、54 等碎片,相应为 40(—CH_2CN^+)+n×14(—CH_2—)的系列峰,但没有 n=9 的离子峰,说明 CH_2CN 的左侧只有 8 个 CH_2。

薤菜中除分离得到**26** 外,也分离得到薤菜酰氨(rorifamide,**27**), $C_{11}H_{23}O_3NS$,熔点 136 ℃。**27** 不具有止咳化痰作用。



26 **27**

四、其他含硫天然化合物

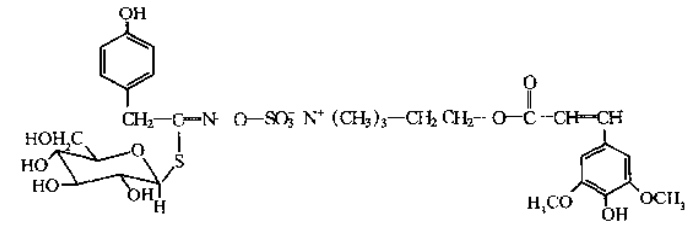
白芥(*Brassica alba*)的种子白芥子含白芥子苷(sinalbin,**28**)[16]。

芥(*Brassica juncea*)的种子芥子及荠菜(*Capsella bursa-pastoris*)含芥子苷(sinigrin,**29**)[17]。

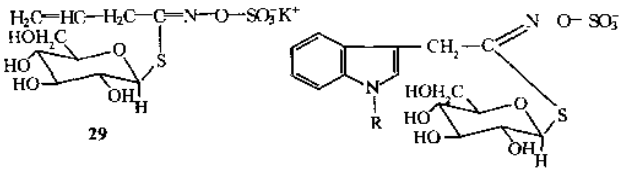
松蓝(*Isatis tinctoria*)的叶子在中药称大青叶,根称板蓝根。其含芸苔苷(glucobrassicin,**30**),新芸苔苷(1-methoxyl-3-indomethyl glucosinolate,neoglucobrassicin **31**),1-磺基芸苔苷(1-sulfo-3-indolylmethyl glucosinolate,**32**)[18]等。中医用大青叶及板蓝根治疗感冒,抗菌消炎,抗病毒,但以上成分是否和这些作用有关联尚不清楚。

萝卜(*Raphanus Sativus*)根含萝卜苷(gluco-raphenin,**33**)[19]。

在这些化合物中硫和氮组成的磺酸盐与异硫氰酸酯,外用时有消炎与止痛作用,其他生物活性作用未见报道。

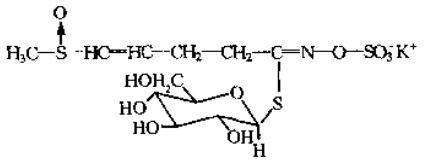


28



29

30 R=H
31 R=OCH_3
32 R=SO_3^-



33

第二节　含氰化合物

研究天然化学时，有时会遇到含氰化合物，其中不少此类化合物常与糖结合成苷。并根据糖基与氰基的位置而分为 α-氰苷和 γ-氰苷。前者如苦杏仁苷(amygdalin，lactrile)、叶下珠苷等在自然界发现的大多属这一类，后者如垂盆草苷(sarmentosin)。大多数的 α-氰苷在酸或酶的作用下即释放出氢氰酸，具有毒性；γ-氰苷在酸或酶作用下一般不能释放氢氰酸。氰苷常形成水合物，能溶于水，乙醇中溶解度较小，难溶于氯仿、乙醚等非极性溶剂。氰苷的提取方法与提取一般苷类化合物相同，为避免酶解可用乙醇提取。

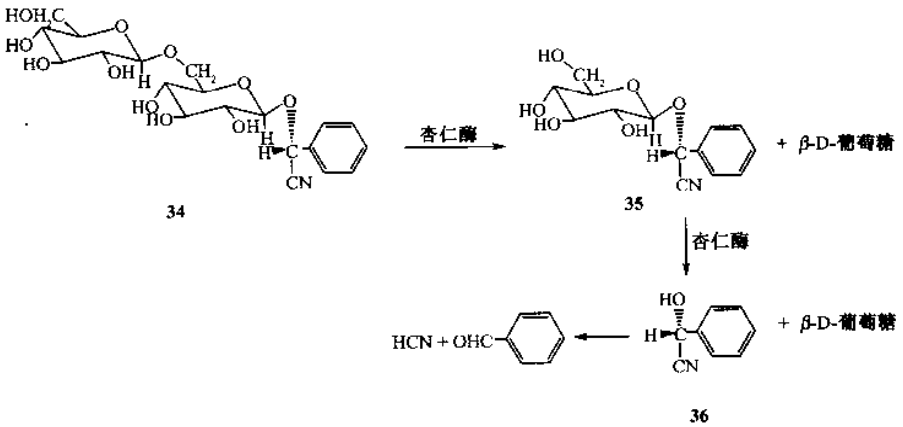
氰苷的谱学特征：氰基在 UV 中显示 119 nm 吸收峰，IR 中有 2250 cm^{-1}的吸收峰，^{13}C-NMR信号为 120 ppm，糖基其他信号与一般苷类化合物的类同。

一、苦杏仁苷

苦杏仁苷(**34**)是从苦杏仁(*Prunus armeniaca*)及桃、李、樱桃、苹果等种子中分出的氰苷，为常见的 α-氰苷，由杏仁腈(mandelonitrile，**36**)与龙胆双糖(gentiobiose)缩合而成的双糖苷。其为柱状结晶，$C_{20}H_{27}NO_{11}\cdot 3H_2O$，熔点 200 ℃，$[\alpha]_D$ -42°(无水物)。**34** 遇杏仁酶(emulsin)水解出一分子葡萄糖而成杏仁腈与一个葡萄糖的野樱苷(prunasin，**35**)，后者可继续酶解生成一分子葡萄糖和杏仁腈(**36**)。杏仁腈遇热也易分解成苯甲醛与氢氰酸。苦杏仁苷遇酶作用除释放出葡萄糖外，也可释放出氢氰酸，如用酸水解则直接得到两分子葡萄糖，苯甲醛与氢氰酸，因而苦杏仁有一定毒性。

苦杏仁苷的提取方法为苦杏仁压榨去油后，用乙醇回流提取，提取液浓缩后即析出杏仁苷结晶，必要时也可加乙醚使析出结晶。苦杏仁苷的含量在苦杏仁中高达 3%左右。

20 世纪 50 年代，苦杏仁苷曾被宣称有抗癌作用，并取名维生素 B_{17}，风行一时。80 年代经美国国家肿瘤研究所 (NCI) 研究证明没有抗癌作用，随后 FDA 正式宣布维生素 B_{17}无效[20~22]。

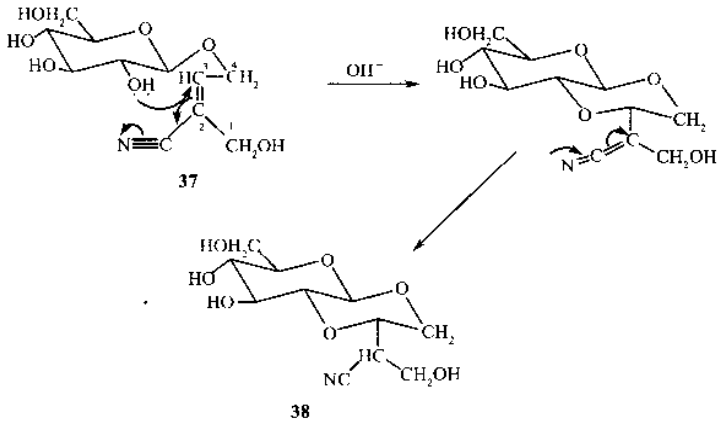


34　35　36

二、垂盆草苷与异垂盆草苷

垂盆草苷(sarmentosin，**37**)是从景天科垂盆草(*Sedum sarmentosum*)中分出的抗肝炎有效成分，为 γ-氰苷，无色透明胶状物[23]，易溶于水，$C_{11}H_{17}O_7N$，$[\alpha]_D$ -17.4°(*c* 0.62，H_2O)。

临床实验证明，它有降低肝炎患者血清谷丙转氨酶(SGPT)作用。当**37** 用酸水解或酶解时仅得葡萄糖，并未分到苷元，这说明苷元的稳定性很差。由于分子中的氰基与双键相连接，水解时不释放氢氰酸，所以垂盆草无毒性。



37

38

垂盆草苷的提取：垂盆草全草粉碎后用95%乙醇回流提取，提取液浓缩，残渣用水磨溶，再加氯仿以洗去叶绿素等杂质，水层减压浓缩；浓缩液使通过颗粒状活性炭柱，先水洗脱，再用70%乙醇洗脱，醇洗脱液减压浓缩后用硅胶色谱，依次用水饱和的乙酸乙酯及乙酸乙酯-甲醇(8:1)洗脱；TLC检测，将含垂盆草苷部分(α-苯酚阳性)合并，再进行二次硅胶色谱纯化，乙酸乙酯-丙酮(3:2)洗脱，垂盆草苷的得率约0.1%。

UV：λ^{MeOH}212 nm(lgε4.02)

IR(cm^{-1})：3540(—OH)、2238(—CN)、1640(双键)、1110(—O—)

MS：m/z 276(M^++1)、257(M^+-H_2O)

^{1}H-NMR(C_5D_5N)：δ 6.70(1H, t, J=6, 烯质子)，4.30(1H, d, J=12, 糖端基质子)，3.82～4.20(7H, m, —OCH_2×3, C_5—H)，4.48～4.76(3H, m, 糖基$C_{2'}$—$C_{4'}$质子)，5.20～7.40(5H, —OH×5)。

^{13}C-NMR(D_2O)：糖基部分：δ 103.0(d, C_1)、74.3(d, C_2)、77.2(d, C_3)、70.8(d, C_4)、77.0(d, C_5)、62.0(t, C_6)。苷元部分：63.0(t, —OCH_2)、145.0(d, =CH)、117.4(s, =C)、68.4(t, —CH_2OH)、117.7(s, —CN)。

垂盆草苷用硫酸及乙酸乙酰化后得无色针状结晶的五乙酰化合物，熔点80℃。

MS：m/z 485(M^+)，443(M^+—$COCH_2$)，426(M^+—$OCOCH_3$)。

^{1}H-NMR(CCl_4)：δ 1.91、1.96、2.01、2.07(15H, s, 1:2:1:1, CH_3CO×5)。糖基部分：3.70(1H, m, C_5-H)、4.13(2H, d, J=5, C_6-2H)、4.57(1H, β-C_1-H)、4.96(3H, m, $C_{2,3,4}$-H)。苷元部分：4.48(2H, d, J=7, —CH_2OAc)、4.60(2H, s, —O—CH_2—)、6.54(1H, t, J=7, 烯质子)。

双照射去偶测定，当照射δ 3.70时，δ 4.13变成单峰，同时δ 4.96的峰形简化；反之，照射δ 4.13时，δ 3.7变成双峰。此现象表明，二者相应为糖基C_5竖键质子与C_6—CH_2的信号。照射δ 6.54时，δ 4.48成单峰，反之，照射δ 4.48时，δ 6.54成单峰，表明两者互为邻位，构成AX_2系统。若用氘代甲苯为溶剂时，则烯质子向高场位移+0.63，较糖基—OCI$_2$移动0.56为大，提示氰基成反式。上述结果说明垂盆草苷结构式如**37**所示。随后为X衍射分析证明。

垂盆草苷在稀碱水溶液于室温即转化成异垂盆草苷(isosarmentosin, **38**)，在乙醇中重结晶，$C_{11}H_{17}O_7N$，熔点212℃，$[\alpha]_D^{21}$+51.4°(c 0.1, H_2O)。但已无生物活性。

异垂盆草苷易溶于水，难溶于有机溶剂，对酸稳定，遇碱、加热则分解。无UV吸收。MS：m/z 275(M^+)，IR(KBr)3460 cm^{-1}、3270(—OH)cm^{-1}、2230(—CN)cm^{-1}，无双键吸收峰。^{1}H-NMR(C_5D_5N)：显示δ 3.20(1H, m)及3048(1H, m)信号，无烯质子信号，推测可能由于分子内Michael亲核加成反应而成一新的环状化合物异构物。上述^{1}H-NMR信号相应为—CH(CN)—CH_2OH(δ 3.20)与CH—CH(CN)—CH_2OH(δ 3.48)的信号。垂盆草苷与异垂盆草苷^{13}C-NMR信号比较见表19-1。

异垂盆草苷用硫酸-乙酸酐乙酰化得四乙酰异垂盆草苷。四乙酰异垂盆草苷，$C_{19}H_{25}O_{11}N$，熔点126 ℃。HR-MS 443.1431($C_{19}H_{25}O_{11}N$，计算值为443.1428)。^{1}H-NMR($CDCl_3$)：δ 2.06, 2.09, 2.13(12H, s, 1:2:1, —$COCH_3$×4)，糖基部分δ 4.47(1H, d, J=7, 端基质子)、3.39(1H, t, J=9, C_2-H)、5.17(2H, m,

$C_{3,4}$-H)、3.89(3H, m, C_5-H, C_6-2H)。其余部分 δ 3.05(1H, m, CH—CH—CH_2OH)、4.08(2H, d, $J=6$, NC—CH—CH_2OH)、4.20(3H, m, —OCH_2—CH—O)。

表 19-1　^{13}C-NMR 信号比较表

	垂盆草苷	异垂盆草苷		垂盆草苷	异垂盆草苷
C-1	68.4 t	69.3 t	C-2′	74.3 d	80.0 d
C-2	117.4 s	37.1 d	C-3′	77.2 d	78.8 d
C-3	145.0 d	60.1 d	C-4′	70.8 d	71.0 d
C-4	63.0 t	72.0 t	C-5′	77.0 d	73.8 d
C≡N	117.7 s	120.0 s	C-6′	62.0 t	61.7 t
C-1′	103.0 d	98.2 d			

双照射去偶实验时，照射 δ 5.17，使 δ 3.89 及 3.39 去偶。反之，照射 δ 3.89 仅使 δ 5.17 去偶，不影响 δ 3.39。照射 δ 3.39 时可使 δ 5.17 去偶；照射 δ 4.20 可使 δ 3.05 去偶，其余信号无影响。这些结果均与推测异垂盆草苷结构相符。^{13}C-NMR进一步证实了上述结构分析。

第三节　薏　仁　酯

薏仁酯(coixenolide，**39**)是从中药禾本科植物薏米仁(*Coix lachryma-jobi*)中分离得到的黄色油状物，有抗癌活性。

薏仁酯的提取分离[24]：薏米仁干粉 2 kg，先用丙酮于室温提取三次(每次 5 L)，合并提取液，减压浓缩至干，得 86.6 g 红棕色糖浆。后者用 450 mL 石油醚溶解，过滤，滤液浓缩得 85 g 红棕色糖浆。得率 4.25%。

取 20 g 糖浆使溶于石油醚，通过硅胶柱色谱。依次用石油醚 1 L、乙醚、丙酮、乙酸乙酯、甲醇各 500 mL 洗脱，各流分分别得到 3.75 g、1.5 g、0.6 g 与 0.1 g。经艾氏腹水癌小鼠测试，仅石油醚部位有活性。

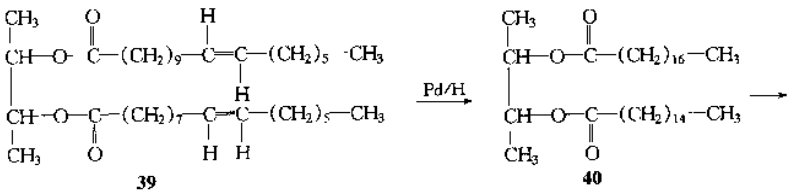
石油醚部分 15 g 用 60 mL 石油醚溶解后用 2mol/L KOH 溶液洗涤二次分离出酸性物(11.7g)及溶于碱的中性物(3 g)。经艾氏腹水癌小鼠测试，显示中性部分有抗癌活性，酸性部分活性很弱。中性部分继续用 10 mL 氯仿溶解后，经过 1% 溴麝香酚蓝(bromothymol blue)溶液浸泡过的氧化铝柱以完全去除酸性物质。氯仿洗脱，当柱上的黄色带移至柱底，即全柱成黄色后，改用丙酮洗脱，直至柱色转化成蓝色为止。氯仿洗脱液为中性成分 2.4 g。丙酮洗脱液为碱性成分 0.52 g，两者均为油状物。

取中性油状物 250 mg 溶于 6 mL 石油醚硅胶柱色谱，依次用乙醚-石油醚 4:96(100 mL)、10:90 (100 mL)、50:50(200 mL) 洗脱，得到 A，B 两个流分，用艾氏腹水癌小鼠测试 B 为有效成分，命名为薏仁酯。

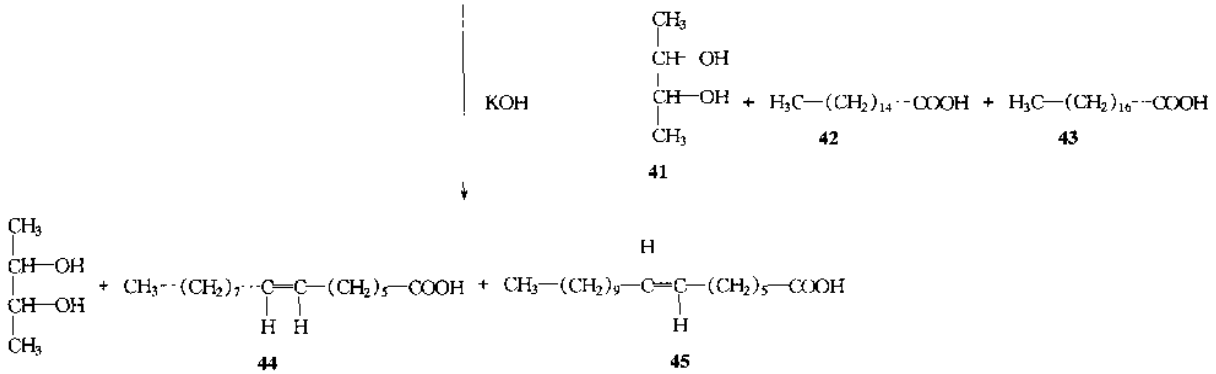
薏仁酯，元素分析得分子式为 $C_{38}H_{70}O_4$，n_{D1} 1.4705，$[\alpha]_D^{20}$ 0°。

其结构解析过程[25]：薏仁酯用钯碳氢化吸收二分子氢得四氢化合物**40**，为无色结晶，熔点 56～61℃，**40** 在甲醇中用 0.1mol/L NaOH 甲醇溶液加热水解得 2,3 丁二酸(**41**)与混含有机酸结晶，熔点 56～61℃，后者进一步用反相硅藻土色谱，依次分离得等分子棕榈酸(palmatic acid，**42**)，熔点 63℃ 与硬脂酸(steric acid，**43**)。

如**39** 未经氢化，直接用 KOH 乙醇加热水解得油状混合物酸与 2,3 丁二醇。前者经分馏得酸 A，沸点 107 ℃，$C_{16}H_{30}O_2$ 与酸 B，沸点 125 ℃。2,3 丁二醇用丙酮结晶，熔点 37℃，$C_{16}H_{34}O_2$。酸 A 与 B 分别制成 β-溴苯乙酮酯(β-bromophenacyl ester)并与标准品对照证明相应为顺式-11-十六碳烯酸(**44**)与反式-11-十八碳烯酸(**45**)。



39　　**40**



薏仁酯的 IR 中除酯基 1730 cm^{-1}吸收峰外并有反式二取代乙烯扭曲振动吸收峰 960 cm^{-1}，这一吸收峰在化合物 **45** 中显得更强，但化合物 **40** 与 **44** 都没有见到这一吸收峰。

我国中医用薏米仁治疗肿瘤，新药"康莱特注射液"也是用薏米仁制备的。其中抗癌有效成分是为薏仁酯或还有其他有效成分尚待进一步研究。

第四节 白藜芦醇

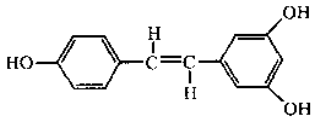
白藜芦醇(resveratrol，**46**)[26]是从葡萄的种子或果皮中分离得到的二酚乙烯(stilbene)类化合物$C_{14}H_{12}O_3$，结构为 3′,4,5′-三羟基 1,2-二苯乙烯 (3′,4,5′-trihydroxylstilbene)，淡黄色结晶，熔点 265～267℃。

IR ν_{max}^{KBr} (cm^{-1}) 3200 ～ 3300 (OH)、1630 (C=C)、1600、1595、1510 (芳环)、965 (反式—CH=CH—)。

^{1}H-NMR(d_6-丙酮)：δ 6.28 (1H, t, J = 2, $C_{4'}$-H)、6.55 (2H, d, J = 2, $C_{2',6'}$-H)、6.76 (1H, d, J = 17)、7.08 (1H, d, J = 17, 反式—CH=CH—)、6.82 (2H, d, J = 9)、7.40 (2H, d, J = 9, 芳环-H, A_2B_2 型, q)、8.23 (3H, brs, 3×OH)。

三乙酰化合物，^{1}H-NMR(d_6-丙酮)δ 2.23 (9H, S, 3×OAc)、6.38 (1H, t, J = 2, $C_{4'}$-H)、7.20～7.40 (4H, 芳环 H 与—CH=CH—)、7.08(2H, d, J = 9)、7.60(2H, d, J = 9, 芳环-H, A_2B_2 型, q)。

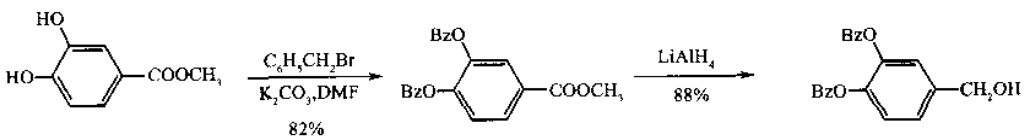
研究表明，白藜芦醇有抗癌与氧化作用。它在红葡萄酒中的含量高于白葡萄酒，因而认为适量饮用红葡萄酒有防癌与抗衰老作用。除葡萄子外，中草药如虎杖、大黄等都含有**46**。

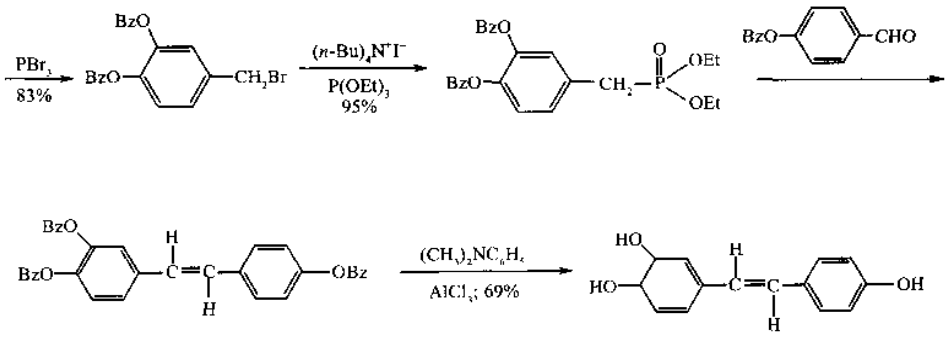


46

1)提取。植物荆三棱(*Scirpus fluviatilis*)的根粉 4.8 kg，先用正己烷回流提取 4 次，再用甲醇回流提取 5 次，合并甲醇提取液，减压浓缩得棕黑色物 550 g，使溶于 2 L 水用丁醇反复提取 (共耗 8 L)，丁醇液减压浓缩得 26 g，经硅胶柱层析，氯仿洗脱得白桦脂酸(betulinic acid)0.13 g，氯仿不溶物(103 g)用硅胶柱层析，苯-乙醚混合溶剂洗脱，苯-乙醚 6∶4 洗脱液部分先后得白藜芦醇 0.81 g 及 3,3′,4,4′-四羟基 1,2 二苯乙烯 0.56 g。

2)合成。文献中记载了许多合成白藜芦醇及其类似物方法，现仅举一种比较成功的方法[27,28]如下：





第五节　麝　香　酮

麝香酮(**65**, muscone, 3-甲基环十五烷酮, 3-Methyl-cyclopentadecanone)是常用中药麝香的主要芳香成分,也是有效成分,含量为1.5%～2%。麝香是鹿科动物麝(*Moyschcus berezovskji*)成熟雄体香囊中的分泌物,是重要中药;有开窍醒神、活血通经、消肿止痛等功效;是治疗冠心病、心绞痛、肝性脑病(醒神)、消炎等中药(如治疗白喉、扁桃腺炎、咽喉炎的六神丸)的主要成分之一。药理实验表明:**65** 有兴奋中枢神经(小剂量时)与抑制神经(大剂量时)、消炎、强心、抗癌、抗早孕等作用。麝香中除含 **65** 外,还有蛋白质、氨基酸、卵磷脂、雄甾醇、胆甾醇、尿素、碳酸铵等多种成分。

麝香酮虽是麝香中的主要成分,但单用它并不能替代麝香。国内一些研究单位已完成人工麝香的制备。估计是**65** 与某些其他成分的混合物。已用于临床。

麝香酮为一环状烷酮结构 $C_{16}H_{30}O$,天然麝香酮为左旋化合物。沸点 328 ℃, $bp_{0.5}$ 130℃, d_4^{17} 0.9221, n_D^{17} 1.4802, $[\alpha]_D$ −11.3°(c 0.91, MeOH),有强烈香味,不溶于水,能溶于乙醇。

麝香来源稀少,麝香酮的结构并不复杂,文献有许多合成麝香酮的报道。如 Stoll 等报道由 15-十六烷二酮经环合成去氢麝香酮再氢化得麝香酮[29]。也有方法是由环十二酮扩环成十五酮制成麝香酮的[30]。我国王大升等[31]利用价廉易得的石油化工产品环十二酮为原料,合成(±)-麝香酮与(*R*)-麝香酮,其关键步骤是偶氮二异丁腈(AIBN)和三正丁基氢化锡(Bu_3SnH)引发和传递的 2-乙氧羰基-2-(2′-甲基-3′-苯硒基)环十二酮的自由基扩环反应。

下面介绍合成麝香酮(消旋物 **53** 与光学活性物 **65**)。

将环十二酮(**47**)制备成2-乙氧羰基环十二酮(**48**),再在 NaH 苯溶液中与 2-甲基-1 苯硒基-3-碘丙烷(**49**)烷基化成化合物 **50**,**50** 在苯溶液中与 AIBN 与 Bu_3SnH 回流,自由基扩环反应产生 3-甲基-5-乙氧羰基环十五酮(**51**),再经浓盐酸水解,以乙酸酮催化,通过乙酸铅的氧化作用脱羧在氢化的消旋麝香酮(**53**),总收率 51%。

化合物**49** 由 2-甲基-1,3-丙二醇(**54**)先与甲苯磺酰氯作用生成甲苯磺酸酯,再与碘化钠反应成碘化物 **55**,而后与二苯二硒及硼氢化钠反应得 2-甲苯-1-苯硒基-3-碘丙烷(**49**)。

消旋麝香酮 (**53**), 无色油小状物, $C_{16}H_{30}O$, 沸点 90℃, n_D^{26} 1.4767; MS: *m*/*z* 238 (M^+, 35%)、223 ($M-CH_3$)$^+$、209 ($M-C_2H_5$)$^+$、195 ($M-C_3H_7$)$^+$、180 ($M-C_2H_5CO$)$^+$、125 ($C_7H_{13}CO$)$^+$、97 (C_5H_9CO)$^+$、86{$[CH_2—C(OH)C_3H_7]^+$, 100%}、69(C_3H_5CO)$^+$、55(C_3H_3CO)$^+$、41(C_3H_5)$^+$。

^{1}H-NMR: δ 0.93(3H, d, J = 6.5 Hz, 3-CH_3)、1.45 [23H, m, (4-14)-CH_2, 3-H]、2.30(4H, m, 2-CH_2, 15-CH_2)。

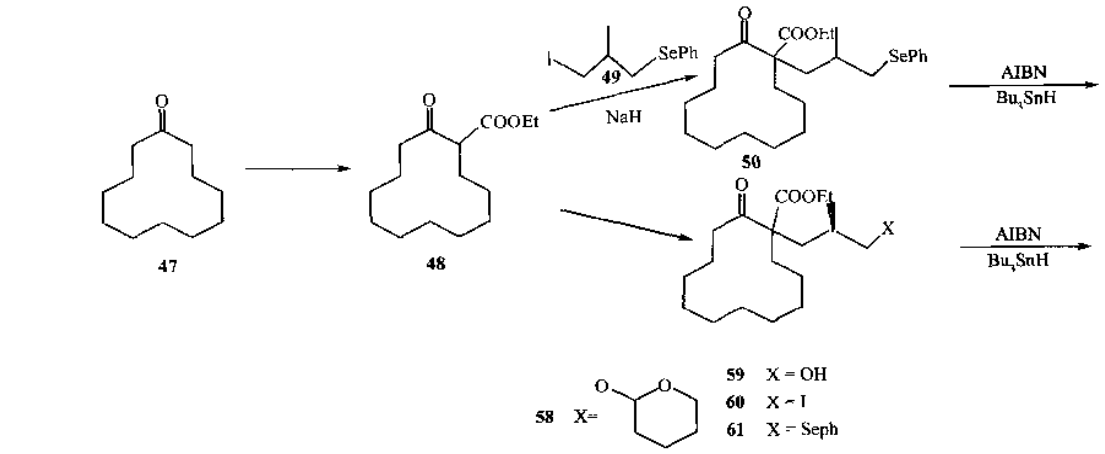
IR: ν_{max} 1700 cm^{-1}(—CO)、1110 cm^{-1}(—C—CO—C)。

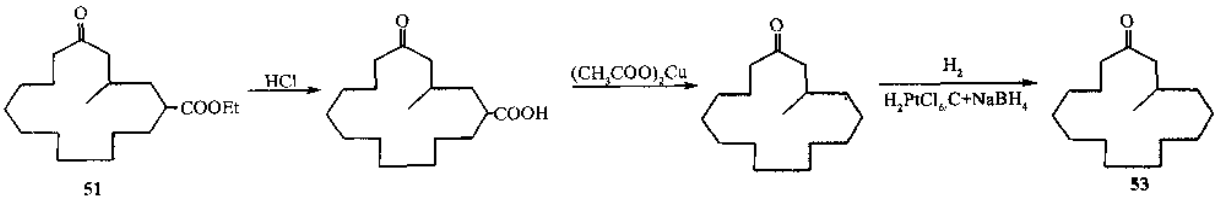
UV: λ_{max} 285 nm(lgε 1.54)。

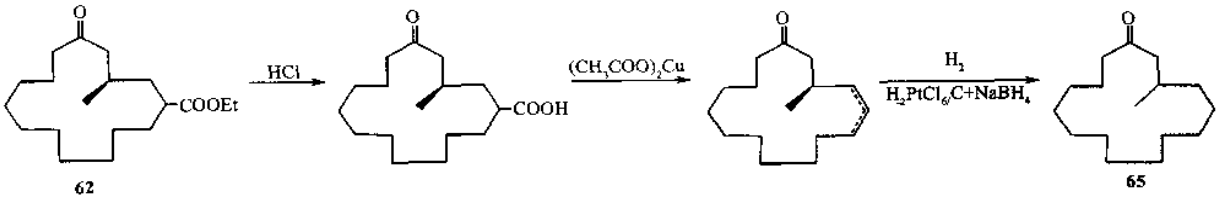
为制备光学活性麝香酮(**65**),用光学活性(*S*)-1-2-甲基-3-溴丙醇(**56**)为原料,先与二氢吡喃反应成(*S*)-1-2-甲基-3-溴丙基四氢吡喃醚(**57**),再按制备 **50** 的程序由 **48** 与 **57** 制备成 2-乙氧羰基-2[(*R*)-2′-甲基-3′-四

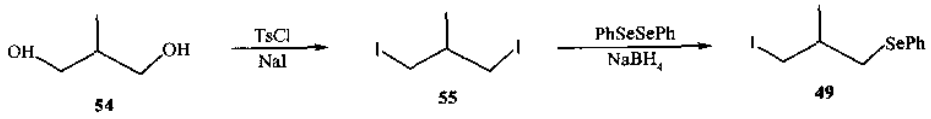
氢吡喃基]环十二酮(**58**)。**58** 和吡啶对甲苯磺酸盐(PPTS)反应,除去四氢吡喃保护基得 2-乙氧羰基-2-[(*R*)-2′-甲基-3′-羟基丙基]环十二酮(**59**),而后经对甲苯磺酰化,碘交换得碘化物 **60**,最后以苯硒基取代碘得苯硒化合物,2-乙氧羰基-2-[(*R*)-2′-甲基-3′-苯硒丙基]环十二酮(**61**)。**61** 用 AIBN 与 Bu_3SnH 处理扩环成十五环酮酸酯(**62**)。后者经水解,脱羧及氢化的光学活性(*R*)-麝香酮**65**,总收率 32%。

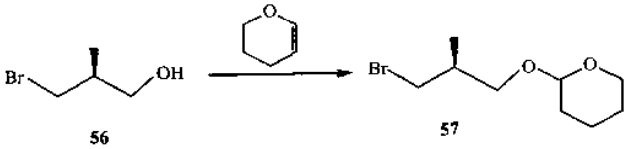
(*R*)-麝香酮的 MS 与 IR 谱都与消旋体相同。^{1}H-NMR: δ0.93 (3H, d, J = 6.5 Hz, 3-CH_3), 1.5 [23H, m, (4-14)—CH_2, 3-H], 2.24(4H, m, 2-CH_2, 15-CH_2)。











第六节　番茄红素及四萜复烯类天然色素

番茄红素(lycopene)是长链不饱和烯，有 11 个不饱和键。与各种胡萝卜素同属四萜类复烯色素。天然存在的番茄红素为反式不饱和烯，在储存及加工过程中由于附加能量的输入而转向成不太稳定的顺势构型。但它的生物活性反而提高。因此认为加工成番茄红素或煮熟的番茄由于含较多的顺势番茄红素而更富营养[35]。过食番茄红素会导致皮肤病番红素血。皮肤变成橘黄色是它的标志[36]。

反式番茄红素为深红色针状结晶，$C_{40}H_{56}$，熔点 172～173℃，其紫外吸收峰为 446 nm、472 nm、505 nm ($E^{1\%}_{1cm}$ 2250、3450、2150)。15, 15′-顺式构型番茄红素：熔点 105℃，UV 为 361 nm、444 nm、470 nm、502 nm ($E^{1\%}_{1cm}$ 1110、1280、1660)。两者均易溶于二硫化碳、乙醚、己烷等非极性溶剂中。

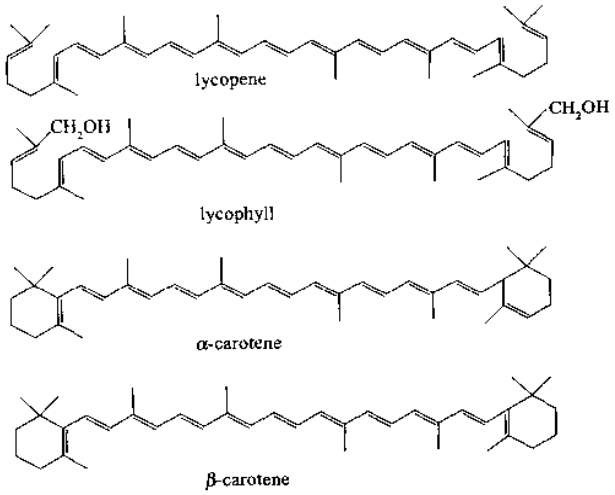
番茄红素的提取比较方便，但难以分离纯化，因为存在各种类似物，特别是含一或两个环氧化的类似物。番茄切碎后用丙酮提取，皂化，将非皂化物用氧化铝柱色谱分离。石油醚-乙醚洗脱，各馏分再经制备型 TLC 反复分离，配合 HPLC 及 GC-MS 鉴别各产物[37]。最近有报道用超临界 CO_2 萃取，最佳条件为 40～50 ℃，压力 15～20 MPa，流速 20 mL/s，萃取 1～2 h[34]或在 65℃用 30 MPa 压力，CO_2 中混有 5% 乙醇[38]。

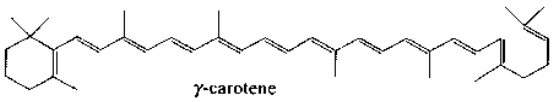
四萜类复烯天然色素除番茄红素与各种胡萝卜素外，还有辣椒(*Capsieum frutescens*)中的辣椒红 (capsanthin)。$C_{40}H_{56}O_3$，相对分子质量 584.88，熔点 181～182 ℃，UV 483 nm ($\varepsilon \times 10^{-3}121$)，$[\alpha]_D + 36°$ ($CHCl_3$)。

辣椒红的提取：辣椒切碎经水蒸气蒸馏后，干燥，乙醇提取，丙酮处理，浓缩，饱和食盐水盐析后用正己烷提取，浓缩己烷液得粗品，进一步用氧化铝或硅胶柱色谱配合 HPLC 或 GC-MS 鉴别，同时也会得辣椒红同系列化合物[39]。

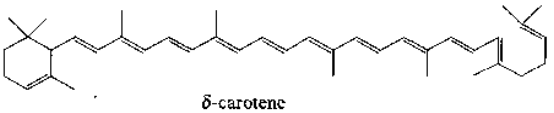
辣椒中的辛辣成分是辣椒素(capsaicin)，$C_{28}H_{27}NO_3$，白色矩形片状结晶，熔点 65℃，沸点 210～220 ℃，UV λ_{max} 227, 281nm(ε7000、2500)，是酚性长链酰胺化合物。提取时先用丙酮浸取，合并提取液，浓缩，用乙醚提取，乙醚提取液经 5% Na_2CO_3 分去酸性成分再利用其酚性性质用 5% NaOH 提取，酸化，乙醚萃取得辣椒素[40]。辣椒素有发疱作用，外用有局部麻醉作用。也可用作食品添加剂，但不是色素。

蛋黄及一些花卉中的叶黄素(xanthophyll)，玉蜀黍中的玉蜀黍黄素(zeaxanthin)，番木瓜(*Caricapapaya*)及茄科 *Physalis* 属植物的花瓣，浆果，及蛋黄，黄油中隐黄质(cryptoxanthin)等都是四萜复烯类天然色素[41]。一些番茄红素及四萜复烯类天然色素的结构式如下：

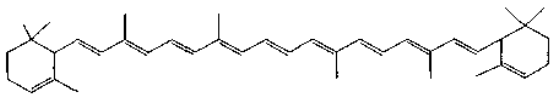




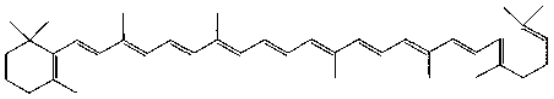
γ-carotene



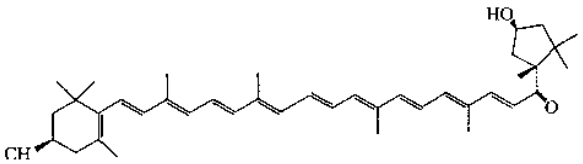
δ-carotene



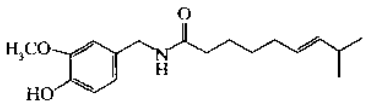
ε-carotene



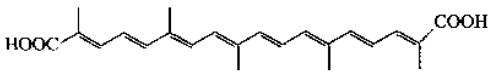
ζ-carotene



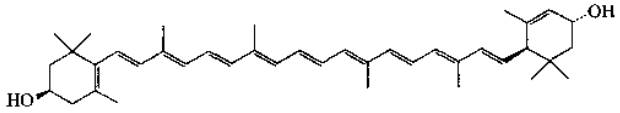
capsanthin



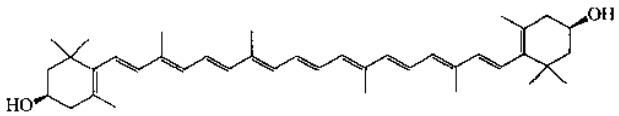
capsaicin



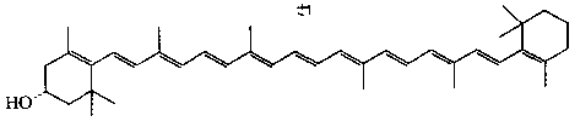
crocetin



xanthophyll



zeaxanthin



cryptoxanthin

参考文献

[1] Stoll A et al. Helv Chem. Acta, 1949, 32: 197
[2] Freeman G et al. J Sci Food Agr, 1975, 26: 1869
[3] Calvey E M. J Chromatography Sci, 1994, 32: 93

[4] 张学俊等.中国调味品,1996,10:24
[5] 郎宜江等.中草药,1981,12:4
[6] 张绍华.天然产物与开发,1997,9:53
[7] Brion M. J Chem Soc, 1961:14
[8] Mutsh-Eckner M et al. J Chrom, 1992, 625:183
[9] 杨佩荣.食品工业科技,2000, 21:63
[10] Dong Y et al. J Cancer Res, 2001, 61:2923
[11] Clement Ip. J Nutr, 1998, 128:1845
[12] Spare C G et al. Acta Chem Scand, 1961, 15:1280
[13] Virtanen A I. Angew Chem Internat, 1962, Edit 1, (6):299
[14] Hegnauer R. Chemotaxonome der Pflanzen Ⅱ, 1963:320
[15] 唐宗俭等.中国科学,1974,1:16
[16] Ettlinger M G et al. J Am Chem Soc, 1956, 78:4172
[17] Waser J et al. Nature, 1963, 198:1297
[18] Elliot M C. Phytochemistry, 1970, 9:1629
[19] Friis P. Acta Chem Scand, 1996, 20:698
[20] Schwartzmaier U. Chem Ber, 1976, 109:3250
[21] Moertel C G et al. N Eng J Med, 1982, 306:201
[22] Herbert V. Am J Clin Nutr, 1979, 32:1121
[23] 方圣鼎等.化学学报,1982,40:273
[24] Ukita T et al. Chem Pharm Bull, 1961, 9:43
[25] Tanimura A. Chem Pharm Bull, 1961, 9:47
[26] Nakajima K et al. Chem Pharm Bull, 1978, 26:3050
[27] Thakkar K et al. J Med Chem, 1993, 36:2950
[28] 陈毅平等.中国医药工业杂志,2000,31:334
[29] Stoll M et al. Helv Chem Acta, 1947, 30:2019
[30] 陈望忠等.化学通报,1998,2:44
[31] 王大升等.化学通报,1995,53:909
[32] Kucuk O et al. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2001, 10:861
[33] Sharma S K et al. Italian J Fd Sci, 1996, 8:107
[34] 孙庆杰.食品与发酵工业,1998,2:47
[35] Shi J et al. Crit Rev Food Sci Nutr, 2000, 40:1
[36] La Placa M et al. J Eur Acad Dermatol Venereol, 2000, 14:311
[37] Benz-Azig A et al. Phytochemistry, 1973, 12:2759
[38] Baysal T et al. J Agric Food Chem, 2000, 48:5507
[39] 李炎等.食品工业科技,2000,21(4):27～29
[40] 林启寿.中草药成分化学.北京:科学出版社, 1997,152
[41] Karrer J. Carotenoids. N Y:Elsevier, 1950

（徐任生）

第二十章　海洋天然产物

随着陆地动植物资源的不断开发和利用，人们在天然药物研究方面取得了很大的进展，已有许多来自天然的具有抗菌、抗肿瘤及作用于心脏和神经系统等有效药物进入临床。但医学界仍然尚有众多的疑难杂症难以被克服，在高科技的推动下，人们对药物的研究已经注意到海洋。海洋是生命的发源地，是地球上最大的生物宝库，占地球表面积71%的浩瀚而幽深的海洋世界里，生息繁衍着地球上80%以上的生物。动物界28个动物门中就有26个生活于水环境中，其中8个门为完全水生生物。海洋几乎包罗了所有各门类的代表生物，而且同种间变异很大。海洋生物不但数量极为丰富，而且种类也异常繁多。据不完全统计，较低等的海洋生物物种约15万～20万种。

在远古时代，人类就开始将海洋生物作为药物来使用，我国就是最早应用海洋药物的国家之一，在多部医药及非医药古书中均有记载，如《神农本草经》对海藻疗效的记载是世界上最早的，“海藻性味咸寒，主治瘿瘤结气、颈下核、痈肿症瘕坚气”。对有毒海洋生物的应用记载也较多，如《本草纲目》记载，“河豚有大毒，味虽珍美，修治失法，食之杀人。肝及子有大毒，入口烂舌，入腹烂肠，无药可解，主治疥疮虫疮，用子同蜈蚣烧研，香油调搽之”。古人对海洋有毒及药用生物的详细记载无疑为后人提供了不可多得的经验。

真正有组织、有系统、有规模地研究海洋药物始于20世纪60年代。1967年，美国海洋技术协会主持召开了“向海洋要药”的专题研讨会，在“向海洋要药”的口号下，迅速由沿海一些发达国家掀起了研究海洋药物的第一次高潮，其间召开了5次专题国际学术会议，出版了近十部专著，并建立了一些先进的研究机构。第二次高潮是20世纪80年代，由于应用科技的快速发展，为开发海洋药物提供了多种硬件设施，如深水采集技术，冷冻干燥样品储存技术，以及生物工程在海洋科学中的渗透等，大大加快了从海洋中分离提纯有生理活性药物的进展。我国在此环境下，得到卫生部、国家医药管理局等的支持，成立了第一个海洋药物专业科研机构，即山东省海洋药物研究所，召开了多次国内外学术会议，走上了与国际接轨的道路。

目前，已从海洋生物资源中提取分离出结构新颖的数以万计的海洋天然产物，其中有特异生理活性的物质已吸引了广大医药、海洋、水产、化学、生物工程、生理、药理、毒理等各界的科技工作者，已有更多的人力投入到海洋资源的开发和新药源的探索之列。

国外对海洋药物的基础性研究较多，侧重于海洋化学和生物学、海洋毒素的活性和结构、海洋生物医药学与药物潜能等方面的研究。有关海洋抗病毒、抗肿瘤、治疗和预防心血管及老年病等方面的新药正在探索当中。目前，已从海生细菌、真菌、微藻、海藻、海绵、软珊瑚、后鳃亚纲类软体动物、苔藓虫、棘皮动物和海鞘类动物中分离得到10 000多种化合物。E. Premuzic在1971年出版的《有机化学在天然产物中的进展》一书中列举了约200种从海洋中分离得到的化合物，推测其中0.1%以上的化合物具有独特的结构并表现出重要的生物活性，自然这些化合物可能是重要的先导化合物或有开发潜力的药物。值得注意的是，自1969年到1999年间，在海洋天然产物方面已获得近300项专利[1]。

阻碍从海洋天然产物中开发新药最重要的问题是“来源问题”。大多数有希望的化合物都具有复杂的结构，因面限制了我们提供大量的合成样品，而且通常这些化合物在生物体中的含量也是很低的，一般不足湿重的10^{-8}(g)。很多研究者认为，这些化合物实际上是由共生的微生物产生的。至今为止，我们仍不能把能产生有希望的代谢物的细菌或真菌类从它们的母体化合物中分离出来。但是，Faulkner和他的合作伙伴在研究海绵/细菌共生体方面取得了可喜的成绩，如果这种共生细菌可以培养，海洋药物的发展前景将会更加乐观。另一有发展的方向是“利用水产养殖开发有潜力的药物”。事实上，早在30年前一家医药公司就开始养殖含大量前列腺素的柳珊瑚(*Plexaura homomala*)。现在，一些地方正在尝试利用水产养殖海绵、苔藓虫和海鞘类动物，并显示出乐观的结果，如果利用水产养殖进行药物生产获得成功必会引起人们的关注。大多数有生物活性的海洋代谢物也同时具有很高的毒性，这是比较棘手的问题，如果有足够的原料可以利用，我们可以对母体化合物进行修饰以降低其毒性或提高其生物活性。但是，由于原料数量限制，化合物结构高度复杂，这样的尝试并没有实现。这个问题的另一种解决办法是建立肿瘤特异性或其他疾病的靶向药物传递

系统。当然，发现新的结构是非常重要的，海洋微生物可以为研究提供新方向。从海洋环境，即海水、沉积物、海洋生物体中分离得到的细菌、真菌类产生的代谢物常与陆生种类产生的代谢物相同或相似，不能培养的微生物也应当进行有意义的开发。Jensen 和 Fenical 概述了海洋微生物代谢物研究现状和发展前景。相反，浮游植物能够产生大量异常的代谢物，这些代谢物一般具有很强的生物活性，并具有空前的结构特征，但也存在一些问题，如生长率低、代谢物产量低、结构复杂等，这些都是不利因素，Shimizu 指出了这些问题。海洋微生物，特别是海绵、后鳃亚纲类软体动物和海鞘类动物是产生有药用价值的重要代谢物的主要来源，Kobayashi 和 Yamada 等各自在发现海绵和后鳃亚纲类软体动物中有药用价值的代谢物方面做出了贡献。抗肿瘤/细胞毒化合物在有生物活性的海洋代谢物中占主要比例，最近有报道说代谢物具有与细胞毒作用不同的生物活性，Kuramoto 等报道了从六放珊瑚中分离出抗骨质疏松症的生物碱。

在第一次"向海洋要药"论谈会上，许多与会者都梦想着海洋药物会在短时间内发展起来，30 多年后，这个梦想似乎正慢慢实现。10 多种海洋药物已经进入临床试验阶段（见表 20-1），而更多的正处于临床前实验阶段[2~4]。ω-芋螺毒素 MVIIA（SNX111）在美国将作为一种止痛药物，Olivera 记录了 ω-芋螺毒素MVIIA 的发现和发展。从海绵代谢物中开发出来的一种独特的脑苷酯 KRN7000 现在正进入临床Ⅰ期阶段。

表 20-1　海洋天然产物及它们的相似物进入临床情况

生　物	化合物	适用症	阶段
海绵动物门			
Agelas mauritianus	KRN7000[1)]	癌症	Ⅰ
Petrosia contignata	IPL-567[2)]	炎症	Ⅰ
腔肠动物门			
Pseudopterogorgia	methopterosin[3)]	炎症/创伤	Ⅰ
纽形动物门			
Amphiporus lactifloreus	GST-21[4)]	老年痴呆症/精神分裂症	Ⅰ
软体动物门			
Dolabella auricularia	海兔毒素 10	癌症	Ⅱ
D. auricularia	LU-103793[5)]	癌症	Ⅰ
Conus magnus	芋螺肽[6)]	疼痛	Ⅲ
苔藓动物门			
总合草苔虫（*Bugula neritina*）	草苔虫内酯 1	癌症	Ⅱ
尾索动物门			
Trididemnum solidum	膜海鞘素 B	癌症	Ⅱ
Aplidium albicans	脱氢膜海鞘毒 B	癌症	Ⅱ
Ecteinascidia turbinate	ecteinasidin743	癌症	Ⅱ
脊索动物门			
白斑角鲨（*Squalus acanthias*）	squalamine	癌症	Ⅰ

1）Agelasphin 类似物。
2）Contignasterosin 类似物。
3）Pseudopterosin 类似物。
4）Anabaseine 类似物。
5）海兔毒素 15 类似物。
6）ω-芋螺毒素 MVIIA。

抗癌药物膜海鞘素 B，是从加勒比海被囊类动物 *Trididemnum solidum* 中发现的，它是海洋药物的先驱，现在已进入临床Ⅱ期试验阶段，但它的肝毒素作用阻碍其作为一种抗癌药物的进一步发展。脱氢膜海鞘素 B（aplidine）是从地中海的被囊类动物 *Aplidium albicans* 中分离出来的，具有较高的活性和较低的毒性作用，脱氢膜海鞘素 B 的活性一般是膜海鞘素活性的 6～10 倍[5,6]，在体内和体外都表现出广泛的活性范围，能够抑制白血病、黑色素瘤、乳腺癌、卵巢癌、结肠癌、非小细胞肺癌和淋巴瘤。膜海鞘素是通过鸟苷三磷依赖性阻止 1-α 因子的延长来抑制蛋白质的合成，从而表现出细胞毒作用。

在1969年的海洋食品药品论坛上，第一次报道了加勒比海被囊类动物 *Ecteinascidia turbinate* 具有

较高的抗癌作用，但分离其中的活性成分 ecteinasidin 及解释这些结构却直到 1990 年才完成。ecteinasidin 是与 saframycin 类似的四氢异喹啉生物碱，其中 ecteinasidin743 是最有希望的药物，它对结肠癌、黑色素瘤和肾脏肿瘤细胞族具有特异性作用，其 $IC_{50}<1pmol/L$，在体内对黑色素瘤、肺癌、乳腺癌、卵巢癌的作用也非常引人注意[5,7]。ecteinasidin 结合在鸟嘌呤的 N_2 位点上，这种鸟嘌呤位于 GC 丰富的 DNA 片段双螺旋结构上的小的沟回上，但它的作用方式有待于进一步阐明。一些地方开始尝试用水产养殖生产 ecteinasidin743。

从海洋生物中分离得到的具有生理活性的化合物中，有一些已作为药品上市，如来自海洋真菌的抗生素头孢菌素(cephalosporine)；来自海绵的抗病毒、抗癌物质阿糖腺苷(Ara-A)；来自红藻的驱虫药海人草酸(kainic acid)；来自褐藻的褐藻酸钠衍生物藻酸双酯钠(PPS)；来自河豚科的高效神经活性剂河豚毒素(TTX)；来自柳珊瑚的前列腺素衍生物及来自异足索沙蚕的农药杀虫剂沙蚕毒素衍生物巴丹(cartap)等，更多的在医药上具有可喜的应用前景。

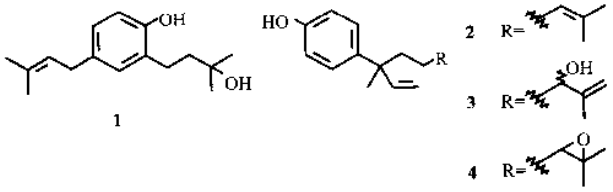
近 30 年来，国内外海洋药物的研究取得了突飞猛进的进展，这与各国的海洋药物研究先驱所做的努力和贡献密不可分，如美国的 Emerson GA、Taft CH、Halstead BW、Nigreli RF、Burkhoder P. 等，以及我国海洋科学家曾呈奎教授等，同时与各沿海主要国家政府对此的重视也是分不开的。如美国 1985 年宣布为海洋年之后，加大了对海洋资源研究的投资，NIH 海洋药物基金额已达 11%，与植物药、合成药基本持平。从海洋生物中提取有关活性成分开发出有价值的新药，已是人们广为关注的重点研究方向，目前已取得了初步成果，展示了广阔的情景，并可望在不久的将来获得突破性进展。

第一节 萜类化合物

在海洋生物中，生物合成的萜类常与醌醇结合形成一类新的天然产物，这是海洋生物代谢的一大特征。这些化合物在文献中被统称作含萜化合物(meroterpenoid)或含异戊二烯结构的芳香族化合物 (prenylated aromatic compound)，是由各种无环、单环、双环萜与不同氧化度和取代的芳香基团相结合的产物，许多具有使草食动物拒食的活性。

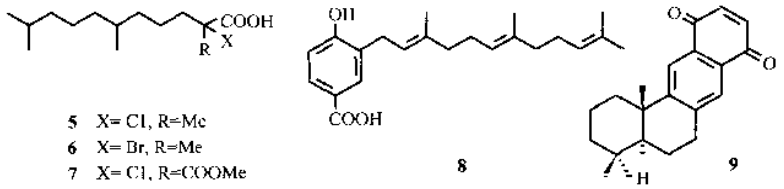
一、单 萜 类

毛头藻科(Sporochnaceae)褐藻含有大量半萜、单萜、倍半萜/苯酚化合物。从西澳大利亚的 *Encyothalia cliftonii* 中获得的新化合物**1** 为双半萜/苯酚[8]，而从加勒比海的 *Sporochnus bolleanus* 中发现的 sporochnols A、B、C (**2**、**3**、**4**)则为单萜/苯酚结构，其中 **2** 对草食性鱼类有显著拒食活性[9]。



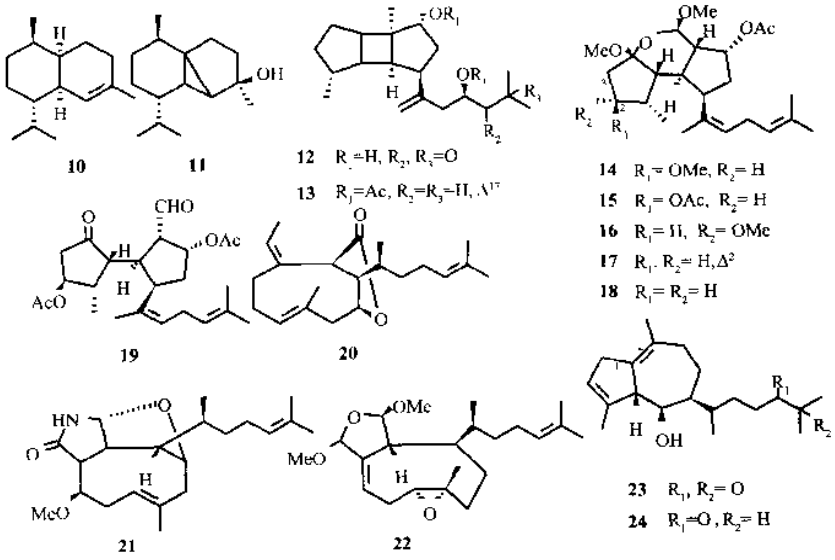
二、倍半萜和二萜

从海洋生物中分离得到的倍半萜类新化合物较少。近年来的报道包括自四迭团扇藻(*Padina tetrastromatica*)中得到 3 个新的卤代失碳倍半萜**5**、**6**、**7**[10]。自澳大利亚的 *Perithalia caudata* 中分离得到 1 个倍半萜/苯酚化合物 4-羟基-3-{1′-[(2′*E*,6′*E*)-3′,7′,11′-三甲基十二烷-2′,6′,10′-三烯]}-苯甲醇(**8**)，由无环倍半萜与对羟基苯甲酸结合，这种类型为首次从天然界发现[11]。此外，从网地藻科(Dictyotaceae)的波状网翼藻(*Dictyopteris undulata*)中也发现 1 种使鲍鱼拒食的倍半萜/苯醌 cyclozonarone (**9**)[12]。



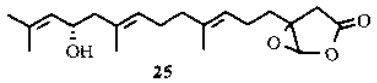
5　X= Cl, R=Me
6　X= Br, R=Me
7　X= Cl, R=COOMe
8　9

海洋生物特别是褐藻中的二萜类成分报道众多，网地藻科藻类中存在丰富的二萜，是近年来的研究热点之一。微点雀尾藻(*Taonia atomaria*)中发现了2个新的二萜4-cadinene (**10**)和4-*epi*-cubebol (**11**)[13]。从边缘列子藻(*Stoechospermum marginatum*)中则得到2个spatane型二萜17,18-epoxy,5(*R*),16-dihydroxyspata-13(14)-ene (**12**)和5(*R*),16(*S*)-diacetoxy spata-13, 17-diene (**13**)[14,15]。厚缘藻 *Dilophus okamurai* 中获得的二萜 secospatacetal A、B、C、D、E 和 dilkamural (**14**～**19**)均为开环spatane型，其中dilkamural对G^+细菌有抑制作用[16,17]。自同属的舌形厚缘藻(*D. ligulatus*)中则得到了xenicane型二萜dilopholide (**20**)[18]。xenicane型二萜是褐藻代谢物的特征，不少具有抗肿瘤活性，dilopholide对P_{388}、KB、人肺癌细胞NSCLC-N6及多药耐药性P_{388}/DOX等肿瘤细胞株均显示显著细胞毒性。近年报道的本类型二萜还有网地藻属(*Dictyota*)2种褐藻中发现的joalin(－)(**21**)和dictyoepoxide (**22**)，joalin(－)为天然界中首个含氮的xenicane型二萜，而具环氧结构的dictyoepoxide则是一种强效的抗利尿激素V1受体拮抗剂，引人注目[19,20]。自网地藻(*D. dichotoma*)中尚发现2个新的二萜acutilol A (**23**)和B (**24**)，为氢化蒎型二萜，均具有少见的Δ^1双键，且对草食鱼类和海胆显示拒食活性[21]。



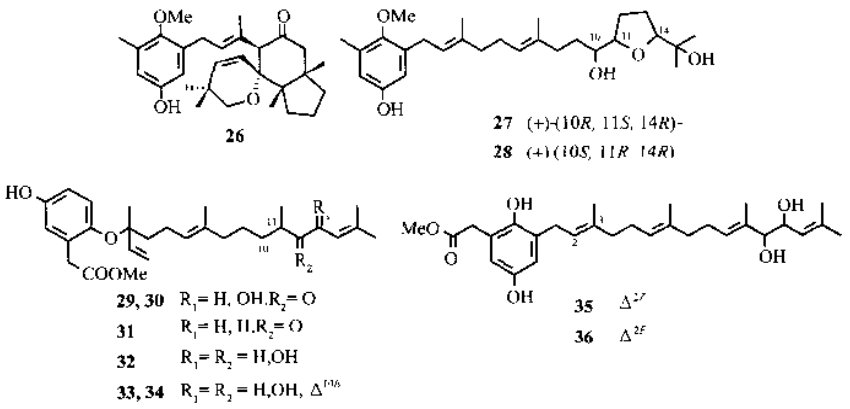
10　11
12　R_1=H, R_2, R_3=O
13　R_1=Ac, R_2=R_3=H, Δ^{17}
14　R_1= OMe, R_2= H
15　R_1= OAc, R_2= H
16　R_1= H, R_2= OMe
17　R_1, R_2= H, Δ^2
18　R_1= R_2= H
19　20
21　22
23　R_1, R_2= O
24　R_1=O, R_2= H

从囊链藻科二歧双叉藻(*Bifurcaria bifurcata*)中得到一系列直链二萜，如从采于法国沿海的品种则发现了具β,γ-氧桥-γ-丁内酯结构的直链二萜化合物bifurcatin (**25**)[22]。



25

囊链藻科(Cystoseiraceae)海藻是二萜醌类化合物的丰富来源。从囊链藻属(*Cystoseira*)1种褐藻中分到1种具有新的碳骨架的代谢物claraenone (**26**)，二萜部分具有[4,3,0]双环壬烷结构[23]。自1种囊载藻 *Cystophora brownii* 中也获得2个新的二萜氢醌**27**和**28**，为一对立体异构体[24]。从马尾藻属 *S. autumnale* 中发现了8个对ET_B受体具有选择性的内皮素拮抗剂，6个为具有芳基二萜醚结构的nahocols A、A_1、B、C、D_1、D_2 (**29**～**34**)，被认为是异戊二烯/醌的代谢前体。另外，2个为二萜氢醌isonahocols D_1 (**35**)、D_2 (**36**)；立体异构体**29**和**30**,**33**和**34**的构型尚未确定[25]。



研究实例：马尾藻属 *Sargassum autumnale* 中新的内皮素拮抗剂二萜 nahocols 和 isonahocols 的研究。

内皮素(ET-1)为内皮产生的由 21 个氨基酸组成的多肽，对离体血管具有极强的收缩作用。其在许多器官的平滑肌及内皮和上皮细胞上有特异性结合位点，这些受体分为两种亚型：ET_A 和 ET_B。临床上，在急性肾功能不全、急性心肌梗死、高血压及动脉硬化等多种疾病中，均可见 ET-1 血浓度的显著增高，因此 ET 受体拮抗剂可能对预防及治疗这些疾病有效。现已获得许多天然及合成的拮抗剂，有些正处于临床试验中。

在从海洋生物寻找新的 ET 拮抗剂过程中，通过筛选海洋生物提取物抑制 ET-1 与其受体(ET_A 和 ET_B)结合，发现褐藻 *Sargassum autumnale* 可产生内皮素拮抗剂。*S. autumnale* 的资源相对较为稀少，一般生长于日本 Tsushima 潮冲刷的几个海湾的浅水中，与大多数马尾藻在早春至初夏成熟不同，该海藻成熟于夏季。海藻以 MeOH 冷浸提取，用 hexane 和 90% MeOH 分配，活性集中于甲醇相中，采用活性追踪法，经多种正相、反相色谱联合应用，分离得到 8 个化合物**29～36**，分离流程如图 20-1。

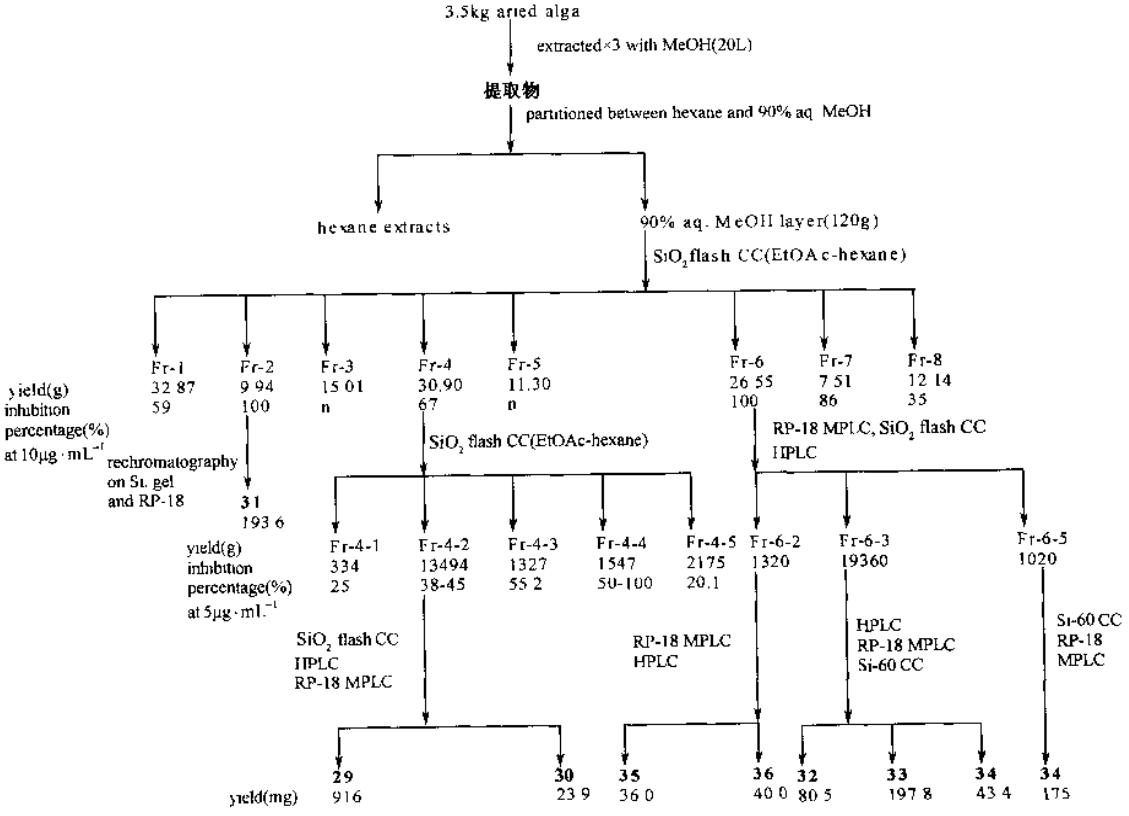
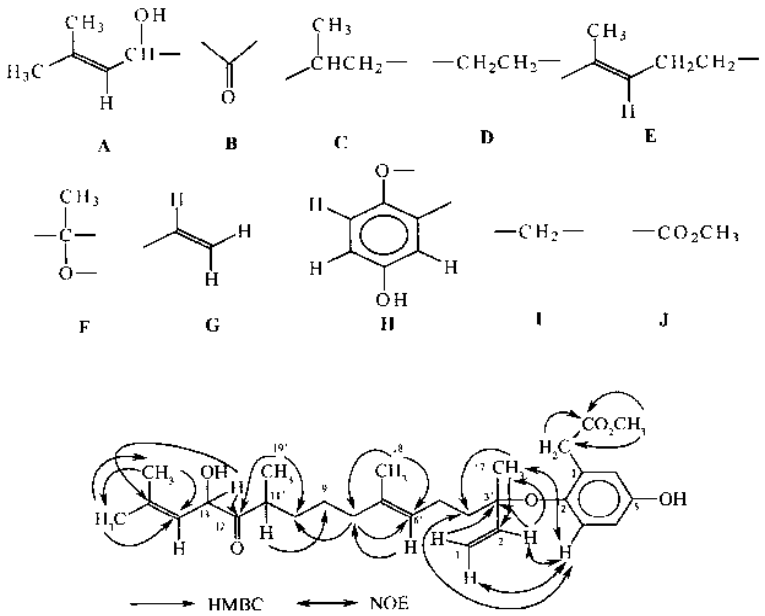


图 20-1 褐藻分离流程图

化合物**29**：无色油状物，HREIMS 分析分子式为 $C_{29}H_{42}O_6$（[M]$^+$ *m/z* 486.3001，Δ+1.9 mmu）。IR 显示有羟基（3450cm^{-1}）、酯（1730cm^{-1}）和羰基（1705cm^{-1}）的存在。^{1}H-NMR 谱中可观察到 1 个仲甲基、1 个叔甲基及 3 个烯甲基的存在，还可推出有 1 个孤立亚甲基及 1 个三取代芳香环。^{13}C-NMR 中，可观察到 15 个 sp^3 和 14 个 sp^2 碳信号。前者包括 6 个甲基碳、6 个亚甲基碳、2 个叔碳和 1 个季碳，后者构成官能团包括 2 个三取代双键、1 个乙烯基、1 个三取代芳香环及 1 个酮和 1 个酯羰基。将 **29** 衍生为二乙酰酯（**29a**）和甲醚（**29b**），分析表明了 1 个仲羟基和 1 个酚羟基的存在。以稀 NaOH 处理 **29a**，可转化为一对异构体 **29c** 和 **29d**，羰基从 12′位转移至 13′位。

通过 HMQC 和 relayed COSY 试验可确定有 10 个片断的存在（**A**～**J**）。通过解析 HMBC 谱将各片断依次连接起来。在 δ 2.68（11′-H）、4.86（13′-H）和 1.05（19′-H）处的 3 个质子与 δ 214.6 处的 C-12 相关，可推测片断 **A-B-C** 的连接关系。**C** 和 **D** 的连接由 11′-H 和 C-9′（δ 25.3）的相关峰推出。6′-H（δ 5.05）和 18′-H（δ 1.55）均与 C-8′（δ 39.4）有远程偶合，可知 **D** 和 **E** 相连。18′-H 与 C-2′（δ 143.6）和 C-4′（δ 42.0）相关，3 个乙烯基质子［δ 5.17，5.18（1′-H）、6.04（2′-H）］与 C-3′（δ 81.7）相关，可以推导出 **E-F-G** 的连接关系。**H-I-J** 片断构成 2,5-二羟基苯乙酸（homogenistic acid）基团，其 1 个羟基和 **F** 通过醚键连接。

NOESY 谱中，芳香氢（3-H）与 1′-H，4′-H 和 17′-H 的 NOE 相关，表明 C-3′通过醚键与 C-2 相连。如果是与 C-5 相连，则 2 个芳香氢均应显示 NOE 效应。综上所述，可确定**29** 的结构为 5-羟基-2-（*O*）-［13′-羟基-12′-氧-3′，7′，11′，15′-四甲基-1′，6′（*E*），14′-十六碳三烯-3′-基］苯乙酰甲酯，其 C-3′，-11′和-13′的相对和绝对构型尚未能确定，命名为 nahocol-A。



化合物**29**～**36** 及衍生物 **29a**、**29c**、**29d** 的内皮素拮抗活性如表 20-2 所示，可知其对 ET_B 受体更具选择性。

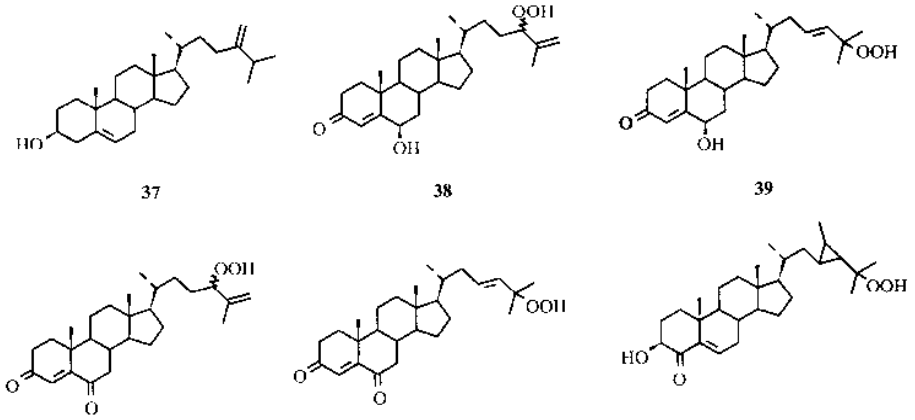
表 20-2

化合物	拮抗活性/（μmol·L^{-1}）		化合物	拮抗活性/（μmol·L^{-1}）	
	ET_A（牛动脉环）	ET_B（猪肺）		ET_A（牛动脉环）	ET_B（猪肺）
29	76.1	21.6	**35**	112.7	18.5
30	84.3	27.7	**36**	100.0	19.1
31	89.3	23.4	**29a**	>3500	>350
32	82.3	27.1	**29c**	152.5	103.8
33	100.8	29.4	**29d**	152.5	101.6
34	78.1	27.7			

第二节 甾体化合物

海洋甾体化合物一直吸引着海洋化学家和药物学家的研究兴趣。与陆生植物甾醇相比，海洋甾醇一般具有更为丰富多样的骨架和支链，许多独特的结构是从陆生植物中所未发现的；一些结构新颖的海洋甾体化合物并具有引人注目的生理和药理活性，有可能为治疗人类重大疾病提供新的研究思路。结构类型包括单羟基、多羟基甾醇，甾酮和其硫酸酯、硫酸盐类，以及甾体皂苷和甾醇苷类等。

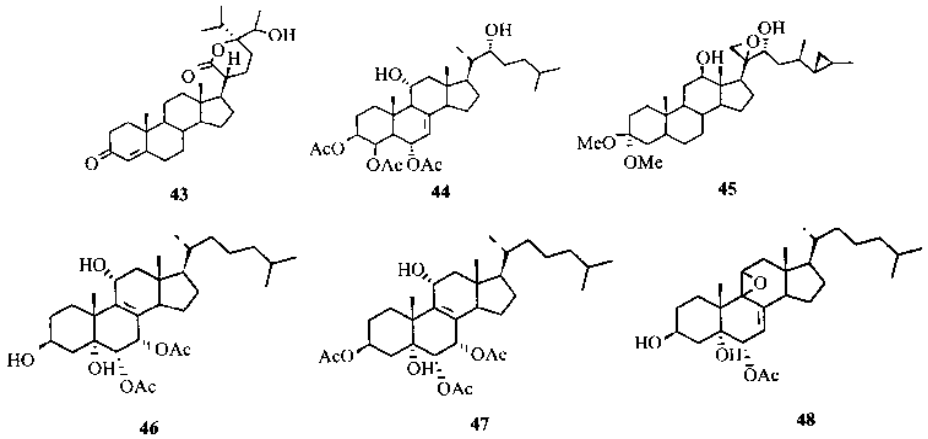
近年从海藻中分离到的新甾体化合物呈减少趋势。自硅藻威氏海链藻 *Thalassiosira weissflogii* 中获得的 1 个新化合物是 24-甲基胆甾-5,24(28)-二烯-3β-醇(**37**)与 13^2-羟基嗜焦素缩合成的酯[26]。自我国台湾南端采集的具边乳节藻 *Galaxaura marginata* 中分离到侧链具氧过氧基取代的链甾醇化合物**38～41**，对肿瘤细胞显示显著细胞毒性[27]。自中国南海绿藻孔石莼 *Ulva lactuca* 中得到 1 个新甾醇 lactucasterol (**42**)[28]。



37 **38** **39**

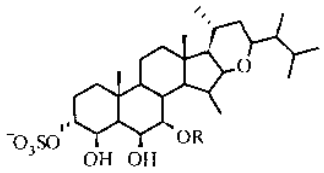
40 **41** **42**

现已清楚在所有生物中海绵(多孔动物门)所含新甾醇的数量最多，结构多样性和新颖性最为明显。自南澳大利亚采集的某一种山海绵(*Mycale*)中获得 1 个侧链结构奇特的甾酮(**43**)并通过 X 射线衍射确定了其结构[29]。许多高度氧化的海绵甾醇具有多种多样的生物活性。角骨海绵属(*Spongia*)某一种海绵中含有的甾醇乙酰酯 agosterol A (**44**)可完全逆转两种细胞膜糖蛋白过度表达引起的人肿瘤细胞多药耐药性，引人注目[30]。从产自日本沿海的某一种光溜海绵(*Xestospongia*)中得到罕见的具有二甲缩酮结构的新甾醇**45**，对 KB 细胞具有极强的细胞毒性，IC_{50} 达 4ng/mL，令人鼓舞[31]。对产于北澳大利亚的某一种掘海绵(*Dysidea*)活性追踪得到 3 个新的多羟基甾醇**46～48**，可抑制[I^{125}] IL-8 对人重组 IL-8A 型受体的结合(IC_{50} = 2.0 μmol/mL、5.5 μmol/mL、4.5 μmol/mL)[32]。

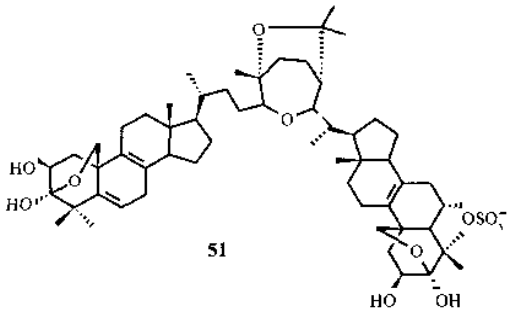


43 **44** **45**

46 **47** **48**



49 R=H
50 R=SO_3^-

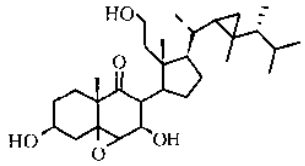


51

许多海绵甾醇成硫酸酯盐形式存在，并具有生物活性。采集自菲律宾的某一种光溜海绵和简骨海绵目(Haplosclerida)1种未鉴定的海绵均存在2个氨基磺酰酯haplosmates A (**49**)和B(**50**)，可抑制HIV-1结合酶，IC_{50}分别为50 μg/mL和15μg/mL[33]。从一种 *Crella* 海绵中获得1个具细胞毒性的双甾醇硫酸盐 crellastatin A (**51**)，侧链间的连接方式非常奇特，已通过ROESY试验确定了其立体构型[34]。

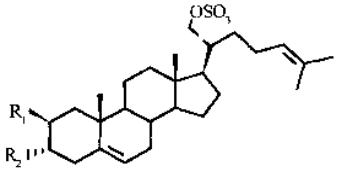
除高度氧化外，海绵甾醇还常存在开环、A环失碳、侧链高度分支等现象。

珊瑚虫纲刺胞动物为海洋甾醇的一个主要来源，化合物数目仅次于海绵甾醇。刺胞动物甾醇氧化程度也较高，一些化合物是开环甾醇。如从印度尼西亚某一种豆荚软珊瑚(*Lobophytum*)得到的3β,7β,11-trihydroxy-5α,6α-epoxy-9,11-secogorgostan-9-one (**52**)[35]为9,11-开环甾醇，对A2780人卵巢肿瘤细胞和K562人白血病细胞的IC_{50}分别为6.3μmol/mL和7.1μmol/mL。

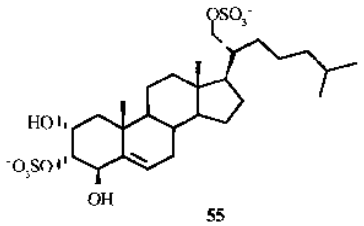


52

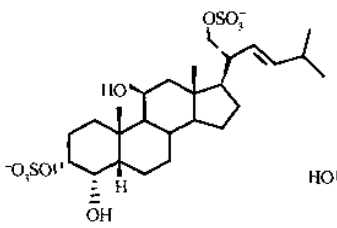
毒性皂苷广泛存在于棘皮动物中，本书仅列出甾体皂苷或甾醇苷的苷元。除以糖苷形式存在外，棘皮动物甾体的另一个特点是大多成硫酸盐。自1种蛇尾纲动物 *Astrotoma agassizi* 和1种片蛇尾属动物 *Ophioplocus januarii* 中分别得到甾醇硫酸盐**53**～**56**，其中3α,4α,11β,21-四羟基-(22*E*)-5β-24-去甲胆甾-22-烯3,21-二硫酸盐(**56**)具抗病毒作用，对呼吸道多核病毒和脊髓灰质炎病毒有抑制作用[36,37]。甾醇硫酸盐asterasterol A (**57**)从大西洋海盘车科动物(Asteriidae)中被发现，具有少见的七元B环(5-氧杂内酯)结构[38]。本科动物中还分到8个甾醇硫酸盐的糖苷asteriidosides A-E,H,I,L,这8个化合物显示中等强度的细胞毒性[39]。



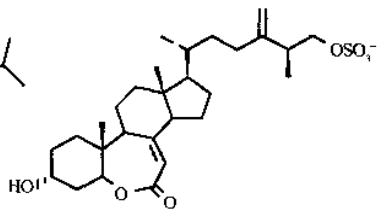
53 R_1=OSO_3^-, R_2=OH
54 R_1=OH, R_2=OSO_3^-, 5,6-dihydro



55



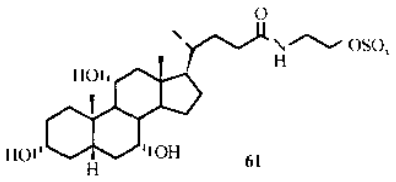
56



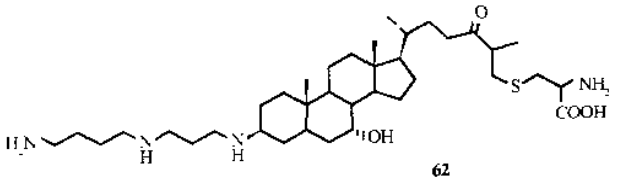
57

从翻车鲀 *Mola mola* 的胆汁中分离出 2 个新的胆醇硫酸盐 5β-malanol 硫酸盐(**58**),5β-cyprinol 硫酸盐(**59**)和 1 个胆酸衍生物 sodium 2-[(3α,7α,11α-trihydroxy-24-oxo-5β-cholan-24-yl)amino]ethanesulfonate(**60**)[40]。自白斑角鲨 *Squalus acanthias* 的肝中发现了 8 种新的氨基甾醇 aminosterols 1～7(**61**～**68**)和 squalamine(**69**),均具有不同强弱的抗菌活性[41],而**69** 已作为新生血管抑制剂类抗癌药物进入Ⅱ期临床试验。

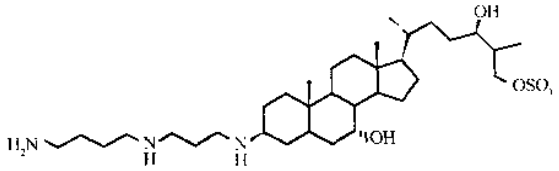
海洋甾体化合物研究是一个较古老的领域,但近年来仍不断从种类繁多的海洋生物中获得多种多样结构独特的新甾体化合物。许多新化合物具有令人关注的生物活性,如细胞毒和抗肿瘤、抗菌、抗真菌、抗病毒等。新药物的开发建立在对大量新化合物的广泛筛选基础上,海洋甾体类化合物无疑是新化合物的一个重要来源。一些结构独特且具有高生物活性的甾体(如**46** 和 **69**)已显示出令人振奋的应用潜力,对一些相对生物活性较低的新类型甾体,经结构修饰和改造后,有望提高活性,从而成为开发新药的先导化合物。值得注意的是,近年来许多研究者的工作已摒弃了过去那种只以阐释化合物结构为单纯目的的做法,而是把化合物的生物活性作为研究工作的重要内容之一,这无疑会大大促进海洋甾体化学的发展,使这一古老的研究领域重现青春。



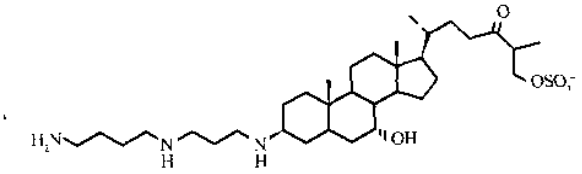
61



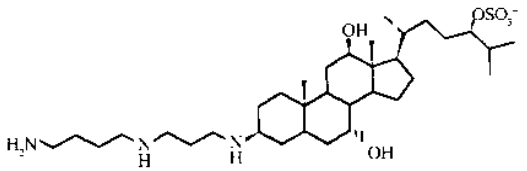
62



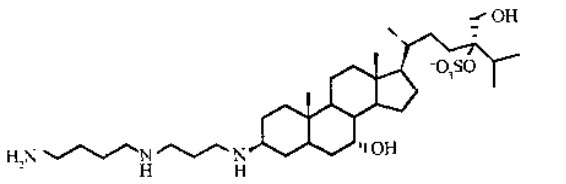
63



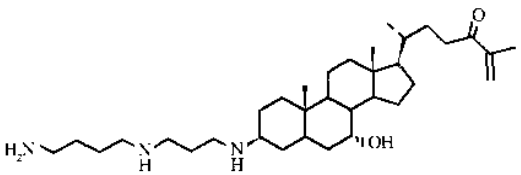
64



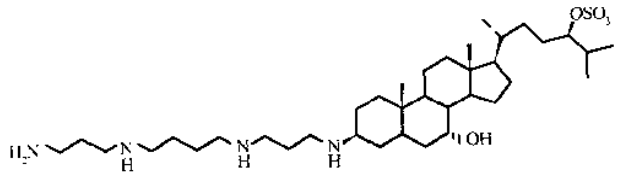
65



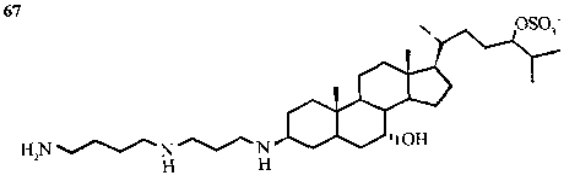
66



67



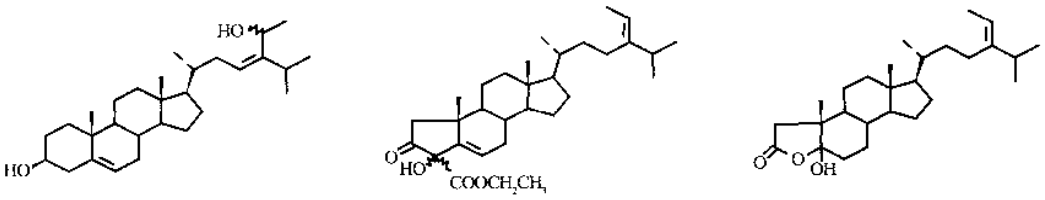
68



69

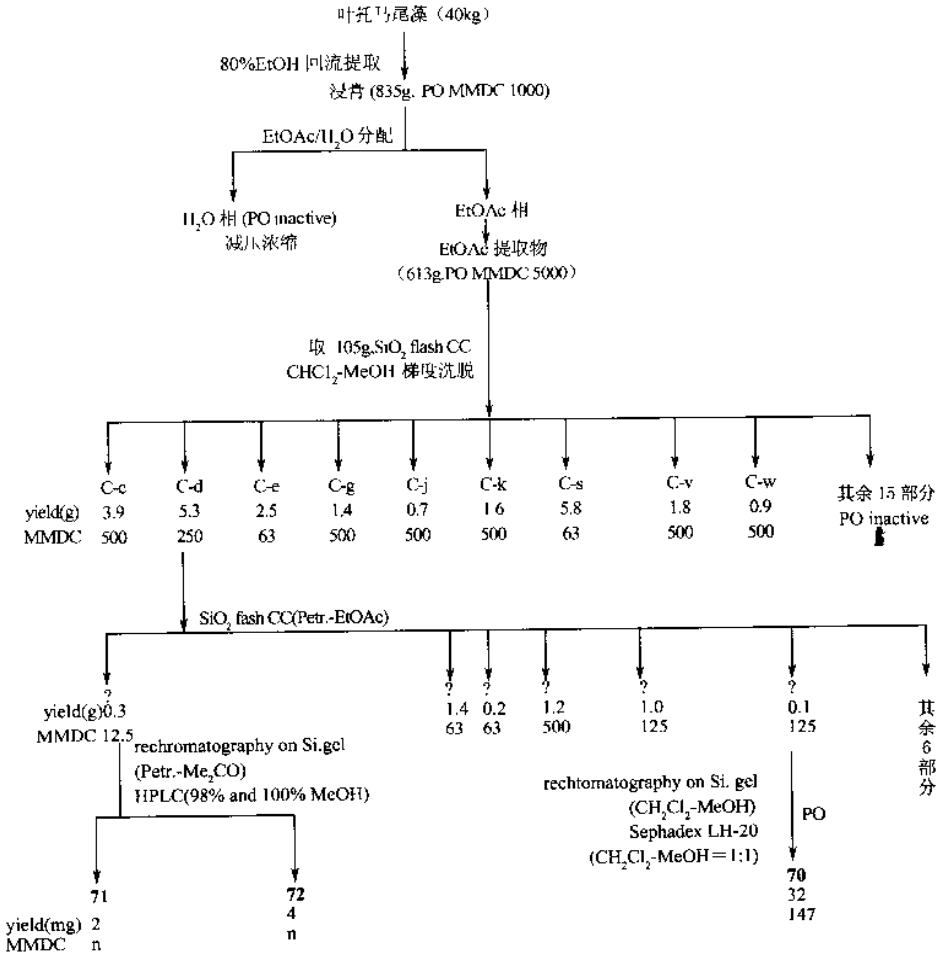
研究实例：叶托马尾藻中抗肿瘤甾体化合物的研究。

马尾藻属褐藻叶托马尾藻（*S. carpophyllum*）在我国东南沿海分布广泛，民间用于气管炎、甲状腺肿大的治疗，也有报道其提取物有抑制肿瘤的活性。自叶托马尾藻中分离鉴定了25个化合物，包括12个甾体化合物，其中3个为新化合物：3β,28ξ-二羟基-24-乙基-5,23Z-胆甾二烯（**70**），24-乙基-3-乙氧甲酰基-3-羟基-A-失碳-5,24(28)-胆甾二烯-2-酮（**71**）和24-乙基-2α-氧杂-2-氧-5α-羟基-3,4-二失碳-24(28)-胆甾烯（**72**）。化合物**70**对P_{388}和HL-60肿瘤细胞株显示有细胞毒活性，同时，对裴氏着色真菌具有特异性的抑制作用。



70　　**71**　　**72**

采用稻瘟霉模型作为抗肿瘤活性监测手段对叶托马尾藻进行了生物活性追踪分离，分离流程如下（PO为稻瘟霉 *Pyricularia oryzae* 的缩写；MMDC指最小菌丝变形浓度，对混合组分，单位为μg/mL，对单体化合物，单位为μmol/L，MMDC≤500μg/mL示有抗肿瘤活性，n：未检测活性。）：



叶托马尾藻甾体分离流程图

化合物**70**：白色粉末，熔点139～140℃，HREI-MS推出分子式为$C_{29}H_{48}O_2$。^{1}H-NMR中可观察到1个烯质子δ 5.35(1H, brd, J=5.2Hz, 6-H)，1个多重峰δ 3.52 (1H, 3-H)和2个角甲基δ 0.70、1.01(各3H,

s，18-CH_3 和 19-CH_3)信号，与已知化合物岩藻甾醇相似，而侧链部分质子信号则有显著差别，推测**70** 也具有 5-烯-3-醇结构的甾体母核。借助 DEPT 和 HMQC 谱，对**33** 的^{1}H-NMR和^{13}C-NMR谱进行仔细分析，表明有 6 个甲基、9 个亚甲基、10 个次甲基和 4 个季碳的存在。1 个烯质子信号[δ 5.49 和 5.25(总共 1H，各 dd，J=8.4，6.0Hz，23-H)]和 2 组烯碳信号[(δ 123.0 和 123.3，C-23)，(δ 149.0 和 149.6，C-24)]表明了 1 个三取代双键的存在。在 δ 4.76 和 4.32 处 2 个四重峰(总共 1H，J=6.4Hz，28-H)，δ 1.27 处 1 个双重峰(3H，29-CH_3)及 2 组碳信号[(δ 66.7 和 67.7，C-28)，(δ 21.5 和 21.7，C-29)]，提示可能存在 1 个与甲基和季碳相连的连氧次甲基。此外，侧链上尚存在其他 3 个甲基，其碳和质子信号分别出现在 δ 18.7、24.5、24.7 和 δ 0.89(3H，d，J=6.4Hz)、1.05(3H，d，J=6.4Hz)、1.07(3H，d，J=6.4Hz)。考虑以上信息，并结合分子式组成，推测在侧链 28 位连有 1 个羟基，且**70** 为 28 位异构体的混合物。这一推测得到了 HMBC 谱的验证。在 HMBC 谱中，可观察到 29-H_3 与C-24，-28，28-H 与 C-25，27-H_3 与 C-24，-25，-26，26-H_3 与C-24，-25-27，25-H 与 C-23，-24，-26，-27，-28，23-H 与 C-25，-28，22-H 与 C-20，-23，-24 及 21-H_3 与 C-20，-22 之间均存在远程相关信号(见图 20-2)，由此确定了甾体母核上连接的侧链结构，从而**70** 的平面结构可推定为 3，28ξ-二羟基-24-乙基-5，23-胆甾二烯。23 位双键的立体构型根据 NOESY 谱确定：可观察到 23-H 与 26 或 27 位甲基的 NOE 信号，而 23-H 与 29 位甲基则没有 NOE 效应，因此，23 位双键应为顺式构型。NOESY 谱中尚观察到 12β-H/21-H_3 和 18-H/20-H 的相关峰，从而进一步确证了侧链的 17β 构型。根据以上分析，确定化合物**70** 为 3β，28ξ-二羟基-24-乙基-5，23Z-胆甾二烯。

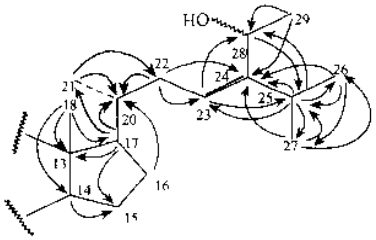


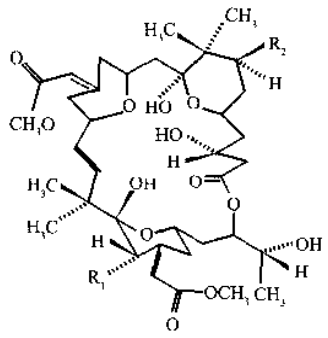
图 20-2 甾醇 70 的 HMBC 谱中关键相关信号

第三节 草苔虫抗癌活性成分

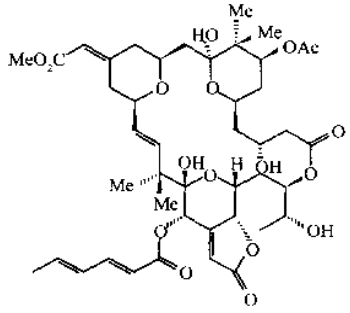
海洋苔藓动物俗称苔藓虫、海席子、假珊瑚及苔虫等，属真体腔动物，是海洋底栖动物的重要组成之一。其种类很多，大约有 4000 多种，最常见的种是总合草苔虫(*Bugula neritina* Linnaeus，1758)也称多室草苔虫，属于外肛动物门(Ectoprocta)裸唇纲(Class Gymnolaemata)唇口目(Order Cheilostomata)双胞苔虫科(Bicellariellidae)[42]。总合草苔虫在世界水域分布广泛，我国沿海从渤海到南海的西沙群岛的多盐水域都有。该群体呈红褐色或紫褐色，呈草丛状，高 40～150mm，每支有个虫两列，交互排列。其群体常附着在海带、石花菜、贝类及船底、码头、航标等水下设施上，影响海洋养殖和国防、海洋交通，是海洋主要污损生物之一。草苔虫除作为底栖鱼类、软体动物等所喜吃的饵料外，其药用价值一直没被发现。直到 1968 年，美国亚利桑那州大学 Pettit 研究小组在对海洋无脊椎动物和脊椎动物的广泛开拓性研究中，首次发现了总合草苔虫的抗癌活性。经过十多年的艰苦研究，1982 年，以釜野德明(Yoshiaki Kamano)为中心的 Pettit 研究小组成功地从采集于加利福尼亚海域的总合草苔虫中分离得到第一个具有抗癌活性的单体 bryostain 1，并用单体 X 衍射法确定了它的结构是大环内酯类化合物[43]，从此，该小组一直致力于总合草苔虫中具抗癌活性大环内酯成分的研究。到目前为止，已从中得到 18 个活性单体，即 bryostatin 1～18。第二军医大学易杨华研究小组从中国产的草苔虫中分离得到一种新的草苔虫内酯成分，命名为 bryostatin 19。

bryostatin 1 经美国 FDA 批准于 1995 年进入Ⅰ期临床试验，1997 年进入Ⅱ期临床试验，临床用于治疗白血病、淋巴癌、肾癌、宫颈癌、黑色素瘤等多种肿瘤，取得明显的疗效，预期不久将批准作为肿瘤药物。bryostatin 1～19 的化学结构如图 20-3 所示。

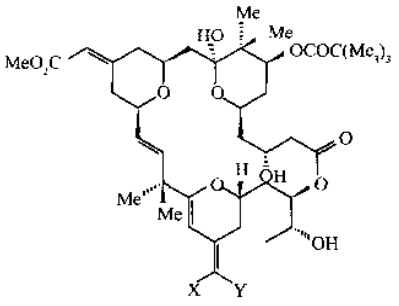
Bryostatin 为 26 环的内酯类化合物，环内还包含 3 个醚键和多个羟基和烷基取代，环上 C7 和 C20 位羟基还与(*E*，*E*)2，4-二烯辛酸、异戊硫酸、三甲酸乙酸、乙酸、丁酸等脂肪酸结合成酯。



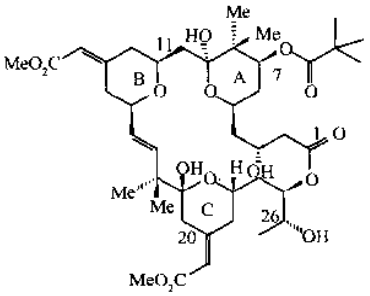
bryostatin 1　R_1 = OCOCH=CHCH=CHCH$_2$CH$_2$CH$_3$, R_2 = OCOCH$_3$
bryostatin 2　R_1 = OCOCH=CHCH=CHCH$_2$CH$_2$CH$_3$, R_2 = OH
bryostatin 4　R_1 = OCOCH$_2$CH$_2$CH$_3$, R_2 = OCOC(CH$_3$)$_3$
bryostatin 5　R_1 = OCOCH$_3$, R_2 = OCOC(CH$_3$)$_3$
bryostatin 6　R_1 = OCOCH$_3$, R_2 = OCOCH$_2$CH$_2$CH$_3$
bryostatin 7　R_1 = OCOCH$_3$, R_2 = OCOCH$_3$
bryostatin 8　R_1 = OCOCH$_2$CH$_2$CH$_3$, R_2 = OCOCH$_2$CH$_3$
bryostatin 9　R_1 = OCOCH$_2$CH$_2$CH$_3$, R_2 = OCOCH$_3$
bryostatin 10　R_1 = H, R_2 = OCOC(CH$_3$)$_3$
bryostatin 11　R_1 = H, R_2 = OCOCH$_3$
bryostatin 12　R_1 = OCOCH=CHCH=CHCH$_2$CH$_2$CH$_3$, R_2 = OCOCH$_2$CH$_2$CH$_3$
bryostatin 13　R_1 = H, R_2 = OCOCH$_2$CH$_2$CH$_3$
bryostatin 14　R_1 = OH, R_2 = OCOC(CH$_3$)$_3$
bryostatin 15　R_1 = OCOCH=CHCH=CHCH$_2$CHOHCH$_3$, R_2 = OCOCH$_3$



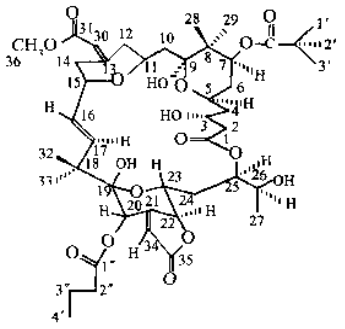
bryostatin 3



X=H,Y=CO$_2$Me bryostatin 16　　X=CO$_2$Me, Y=H bryostatin 17



bryostatin 18



bryostatin 19

图 20-3

bryostatin 1 能抑制 HL_{60}、U_{937}[20]的生长促进其分化，该结果在慢性髓性白血病和慢性单核细胞白血病和急性髓性白血病也有报道。B-淋巴瘤细胞用 bryostatin 1 刺激后也能促进分化。在造血体系中，bryostatin 1 具有诱导血小板聚集，促进白细胞氧化作用[44]。另外，当加入人骨髓培养液中时，它能刺激粒单系集落

(granulocyte-macrophage colones)的产生。在培养液中,bryostatin 1 能抑制表皮细胞间的联系,抑制支气管上皮细胞的鳞状分化和人肺细胞、乳腺癌细胞的生长。同时,鞘磷脂酶引起的人白血病细胞的凋亡(apoptosis)能为 bryostatin 1 长时间的预先温育所促进[45]。对于 dolastatin 10、dolastatin 15(从海兔中提取的两种具有抗癌活性的天然肽)和长春新碱引起的 WSU-DLCL2 细胞的凋亡也有促进作用[46,47]。更有意义的是:bryostatin 1 不但有抗癌活性,实验表明 bryostatin 1 也能大大增加 IL-1 诱导骨髓干细胞中 G-CSF、GM-CSF 和 IL-6 的产生,升高 G-CSF 的 mRNA 的水平,促进正常造血前体的生长[48]。另外,bryostatin 1 本身即能提高 T 细胞在放疗中的纯活率[49],还能协同 G-CSF 或 IL-6 促进粒单系集落刺激因子(GM-CSF)的增长[50],用 GM-CSF/IL-3 融合蛋白 PLXY321 人骨髓细胞进行放射性保护实验发现 bryostatin 1 有选择性的增强作用[51]。

上述大量的 bryostatin 1 生物活性表明:bryostatin 1 在体内的抗癌作用是复杂的。首先,对白血病细胞的诱导分化作用提示:对有分化能力的癌细胞能被 bryostatin 1 诱导分化。其次,它还能诱导或抑制其他组织和器官产生各种因子。例如:bryostatin 1 与细胞培养能刺激肿瘤坏死因子(TNF-α),γ 干扰素和 IL-2 的释放,促进 TNF-α 的 mRNA 的升高[52]。此外,bryostatin 1 还有免疫调节作用,能激活免疫系统杀死恶性肿瘤细胞,还能增加病人外周白细胞对 IL-2 诱导增值的反应性促进 LAK 的活性[53~55]。分子生物学实验发现它能增加 IL-2 受体在 CD4+CD8+和 CD56+细胞上的基因表达,提高 IL-2 同 CD8=细胞的结合,在用 IL-2 和 LAK 对转移性肿瘤进行免疫治疗时合用 bryostatin 1 能大幅地促进 T 淋巴细胞的增殖[56],这些 bryostatin 1 诱导增殖的 T 淋巴细胞的抗癌活性也有报道[56,58]。临床前实验表明:bryostatin 1 能大幅度增加阿霉素、长春新碱和苯丁酸氮芥等化疗药物的抗癌活性[59]。bryostatin 1 还能增加颈部癌细胞对顺氯氨铂的敏感性[60]。1-β-D-阿糖胞苷对 HL60 细胞的抑制作用也能为 bryostatin 1 所增强[61]。

研究实例:bryostatin 19 的提取分离和结构测定研究实例。

从中国南方采集的新鲜样品总合草苔虫 *Bugula neritina*,洗净,置阴凉通风处阴干,用 CH_2Cl_2 冷浸提取,提取物混悬于 MeOH:H_2O(9:1)溶液中,用正己烷萃取,含水甲醇层再加水至 MeOH:H_2O(4:1),用 CCl_4 萃取,得 CCl_4 萃取部分。经多次 Sephadex LH-20 凝胶柱层析和硅胶柱层析,最后再经高效液相层析制备。色谱条件为:Waters 510 高效液相层析,Bondapak C 18 层析柱(9mm×500mm),洗脱剂为 80% MeOH/H_2O,流速 2ml/min,检测波长为 228nm。

总草苔虫内酯对 K562 红白细胞白血病细胞株显示出极强的抑制活性。$IC_{50}<1\times10^{-15}$mol/L 分离得到的新内酯成分——byostatin 19 对 u937 单核细胞白血病细胞株也显示显著的抑制活性。

bryostatin 19:白色细针晶;熔点 140~142℃;分子式 $C_{45}H_{66}O_{17}$;元素分析:实测值 C 61.0%,H 7.7%,理论值 C 61.5%,H 7.51%;UV λ_{max}^{MeOH}(nm):228.7;IR ν_{max}^{KBr}(cm^{-1}):3457(OH)、2950(CH_3,CH_2)、1795(C=O,五元内酯环),1740(C=O),1600,1290,1245,1160;ESI-MS:902$(M+Na+H)^+$,推算出相对分子质量为 878。采用高分辨核磁共振仪(600MHz)测定了该化合物的 DQFCOSY、HMQC、TOCSY、NOESY 等二维相关谱,确定了该化合物的所有的碳原子和氢原子的信号归属(表 20-3),化学结构如下:

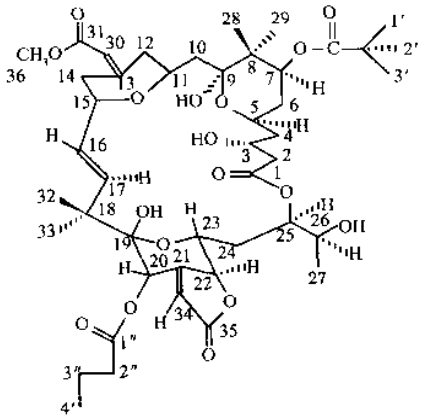


表 20-3　bryostatin 19 的^{1}H和^{13}C核磁共振谱数据(600MHz,$CDCl_3$)

序号	^{1}H-NMR/ppm	^{13}C-NMR/ppm	序号	^{1}H-NMR/ppm	^{13}C-NMR/ppm
1		172.51	22	4.47(d,J 8.9Hz)	81.34
2	2.50(d,J - 12.0Hz)	41.93	23	3.76(m)	69.06
3	4.06(Brs)	68.32	24α	2.37(m)	32.95
4α	1.60(Brd, J = 15.0Hz)	39.38	24β	1.88(m)	
4β	2.00(Brt,J - 15.0, 13.0Hz)		25	5.06(ddd,J = 9.2,5.3,3.0Hz)	72.87
5	4.22(Brt,J = 11.9Hz)	65.77	26	3.86(m)	69.57
6α	1.72(ddd,J = 12.0, 7.0Hz)	33.15	27	1.23(d,J = 6.6Hz)	19.19
6β	1.44(m)		28	1.04 (s)	21.21
7	5.13(dd,J - 11.9,4.6Hz)	72.27	29	0.95 (s)	17.04
8		41.28	30	5.71 (s)	114.61
9		101.79	31		166.97
10α	1.67(d,J - 14.8Hz)	42.12	32	1.04(s)	21.03
10β	2.10(dd,J = 14.8,7.9Hz)		33	1.15 (s)	24.49
11	3.86(Brt,J = 6.3Hz)	71.25	34	5.83 (s)	114.30
12α	2.09(d,J = 14.8Hz)	44.01	35		171.90
12β	2.19(dd,J = 18.2,7.9Hz)		36	3.71 (s)	51.10
13		156.23	1′		177.51
14α	3.68 (d,J - 19.0Hz)	36.22	2′		39.04
14β	1.9 (d,J 19.0Hz)		3′	1.20 (s)	27.16
15	4.15 (m)	78.17	4′	1.20 (s)	27.16
16	5.43(dd,J = 15.8,8.3Hz)	132.58	5	1.20 (s)	27.16
17	5.72(d, J = 15.8Hz)	136.37	1″		172.10
18		45.24	2″	2.43(t,J = 7.6Hz)	36.13
19		101.57	3″	1.70 (m)	18.28
20	5.83 (s)	68.61	4″	0.98(t,J = 7.6Hz)	13.74
21		166.75			

第四节　海绵活性天然产物

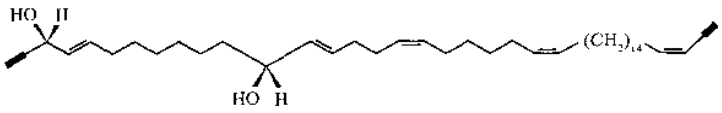
海绵是最原始的多细胞动物,细胞已分化,但未形成组织。体态多不对称,具有不规则的块状,球状,树枝状,管状和瓶状等形状。体内有骨针或海绵丝,体表多小孔,因此也称为多孔动物(porifera)。水通过进水小孔进入体内,然后经排水孔排出体外。由于领细胞(choanocyte)的鞭毛活动使水循环,通过水流带进食物、氧气并排泄废物。幼体管游泳生活,成体管固着生活。有三个纲:钙质海绵纲(Calcarea),具有钙质骨针的骨骼;六放海绵纲(Hexactinellida)或玻璃海绵,具有硅质骨针的骨骼;寻常海绵纲(Demospongia)具有硅质骨针,海绵硬蛋白纤维或两者都具备的骨骼。

海绵动物遍布世界,我国海绵种类繁多,估计有 5000 多种,约占目前世界上已知海绵种类的一半。海绵约 1%生活于淡水中,10%生活于潮间地带,其余生活于海水中。海绵通过体壁小孔的水流而摄入微生物和有机营养物。海绵与微生物长期进化形成密切的共生关系,缺少某些微生物,会使海绵无法由受精卵发育成熟,而有些微生物也无法脱离海绵而独立生存。海绵中的微生物可占本体干重的 70%,因此许多从海绵中获得的天然产物很可能是与其共生的微生物的次生代谢产物。近年来对海洋次生代谢产物的研究一直是海洋天然产物研究中最为活跃的领域。

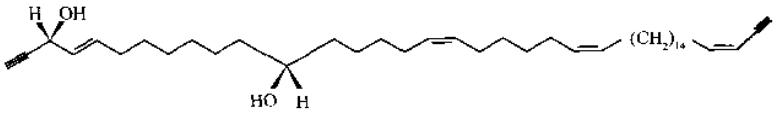
一、炔类化合物

许多分自海绵动物的多炔类化合物具有 H^+ 和 K^+-ATP 酶抑制、抗细菌、抗污损(antifouling)、抗微生物,HIV 蛋白酶抑制,HIV 逆转录酶抑制,免疫抑制和抗肿瘤等方面的活性。通过 P_{388}细胞毒追踪和海虾致死追踪的方法,韩国学者从 *Petrosia* sp. 中分离得到三个 C_{42}多炔同系物和三个 C_{30}多炔同系物。其中四个

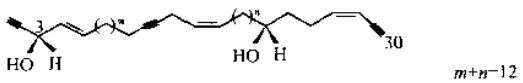
(化合物 **73**、**74**、**75**、**76**)是新化合物。



73

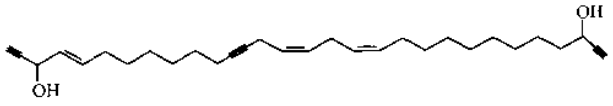


74



$m+n=12$

75



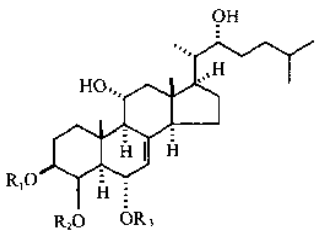
76

这些化合物在室温下不稳定,但在 −20℃时可稳定存在,并对多种人实体肿瘤细胞株有程度不同的细胞毒活性[62]。韩国学者还从 *Petrosia* 属海绵中分到了一种炔类和六种炔醇甘油醚类化合物,并对发现其中三种炔醇甘油醚类化合物对人白血病细胞株 K_{562}有细胞毒活性[63]。另外,从 *Theonella* 属海绵动物中也分到了八种多炔类化合物(其中 4 个是新化合物),这是从该海绵中首次分离得到此类化合物[64]。

二、甾体类化合物

海绵动物已被证明在所有机体中具有最多样化的甾体类化合物。海绵动物中的单羟基甾体化合物可由只含 1 种到含有 74 种之多[65,66],并含有为数众多的具有不寻常结构的甾体类化合物。

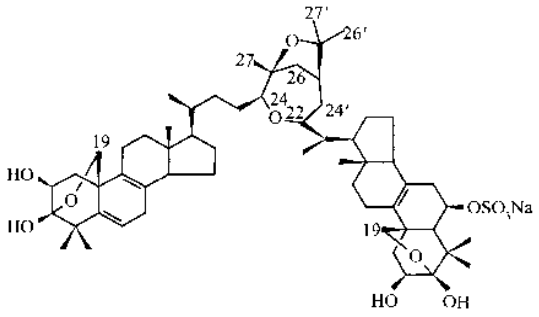
肿瘤细胞对联合使用抗肿瘤药物的抗性阻碍了化疗的成功。多药抗性(multi drug resistance,MDR)的主要机制在于某特定细胞膜糖蛋白的过度表达,该类糖蛋白(如 *P*-glycoprotein)在有能量供应的条件下将抗癌剂泵出细胞(an energy-dependant efflux pump of anticancer agent)。因此抑制此类糖蛋白的活性可使化疗更为有效。日本学者从 *Spengia* sp. 中分离得到几种乙酰化多羟基甾醇类化合物可彻底逆转由于细胞膜糖蛋白基因过度表达而产生的多药抗性(MDR)。命名为 agosterol 系列,其中 agosterol A 结构如下:



agosterol A(1)

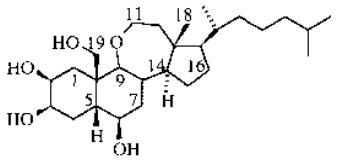
	R_1	R_2	R_3
	Ac	Ac	Ac

构效研究表明 3,4,6 位的乙酰氧基和 11,22 位的羟基是必不可少的[67]。从海绵 *Crella* sp. 中分离得到 7 种二聚体甾醇衍生物(crellastatin),两个甾醇衍生物通过侧链相连是极为罕见的 cerellastatins A 的结构如下:



cerellastatins A

所有的 crellastatin 化合物对人 NSCLC 细胞株的 IC_{50}值均在 1～5μg/mL 范围内[68]。韩国学者从两种未获鉴定海绵的共生物中分离得到了三种多羟基甾体糖苷类化合物，具有中等强度的细胞毒和抗菌活性[69]。从 *Lensendeldia chondrodes* 中分离得到一种新的 9，11-断甾醇烯醇醚类化合物：

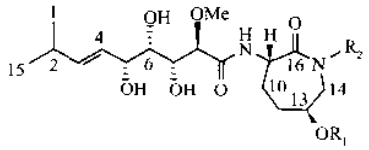


这是首次发现甾醇开裂的 C 环通过烯醚醚环合为七元环[70]。另外，从 *Xestospongia festudinaria* 中分离得到两种新的溴代炔基脂肪酸甾醇酯类化合物[71]。从 *Xestospongia* sp. 中分离得到两种新的甾醇磺酸酯类化合物[72]。从 *Lendenaheldia chondrodes* 中分离得到一种新的 5,8-过氧环甾醇类化合物[73]。

三、生物碱类

目前已经从海绵动物中分离获得了大量的生物碱类化合物，许多具有潜在的抗肿瘤和抗病毒抗菌等生物活性。

从 *Jaspis* 种的海绵中分离得到了两种新的 bengamide 类生物碱：bengamide Y 和 bengamide Z：



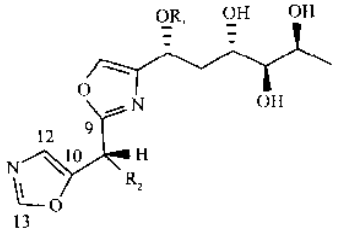
	R_1	R_2
bengamide: Y	H	H
bengamide: Z	H	CH_3

两者对 10 种人肿瘤细胞株的细胞毒性有惊人的差异。即使来源接近的 SNB-19 和 SNB-75 细胞株对两种 bengamide 的敏感性也有显著的差异[74]（表 20-4）。

表 20-4 bengamide Y and bengamide Z 的测试结果

Tumor type	Cell-line	bengamide Y IC_{50}/(μg/mL)	bengamide Z IC_{50}/(μg/mL)
CNS	SNB-75	>40	>40
CNS	SNB-19	0.68	0.56
Colon	HCT-116	0.8	4.0
Colon	HCT-15	>40	>40
Melanoma	LOX	4.4	2.1
Melanoma	MALME-3	>40	>40
NSCLS	A549	4.8	4.1
NSCLS	HOP-92	>40	>40
Ovarian	OVCAR-3	4.6	0.52
renal	UO-31	9.9	7.2

bengamide类化合物曾报道具有驱虫活性[75]，这该类化合物具细胞毒活性的首次报道。从 *Pachastrissa* sp. 中分离得到新化合物 bengamide L，抗真菌筛选无效，未见有关其细胞毒活性报道[76]。从 *Jsapis* 种海绵中还分到了 bengazole类生物碱 bengazole Z[76]：



	R_1	R_2
bengazole	H	H

从 *Pachastrisia* sp. 中分离得到了六种新化合物 bengazole(1～6)并具显著抗真菌活性，对 *Candida albicans* CIP 118079 体外 $IC_{50}=0.8\sim1.5\mu g/mL$，但对 *Saccharomgces cerevisiae* ATCC 28383 无活性[76]。

从 *Stelletta* 属海绵动物中分离得到三种萜类生物碱，对大肠杆菌有边缘抗菌活性[77]。从 *Batzella* 属海绵中分离得到三种吡咯并亚胺喹啉类生物碱：sccobatzelline A 和 B 体外对培养的小鼠 P_{388} 肿瘤细胞的 IC_{50} 在 0.025～1.22μg/mL，体外对人肺癌细胞 A-549 的 IC_{50} 值在 0.04～2.86μg/mL，且都表明抑制(phosphatase activity of calcineurin and the peptidase activity of CPP32)[78,79]。其他分自海绵的具有细胞毒活性生物碱有：从 *Stylissa carteri* 中分离得到的两种溴取代的吡咯类生物碱，体外对 MONO-MAC-6 细胞的 IC_{50} 值为 2.4μg/mL 和 0.2μg/mL[80]，从 *Latrumculia* 和 *Zyzzya* 属海绵中分离得到的吡咯并亚胺喹啉生物碱[81]。从 *Echinoclathria* sp. 中分离得到的一组新类型的吡啶生物碱 echinoclathrine A～C，其中 echinoclathrone A 对 P_{388}、A-549、HT-29 细胞株的 IC_{50} 值在 10μg/mL 水平，echinoclathrine A 和 B 具有弱的免疫抑制作用，以及对海虾有温和毒性($IC_{50}=10\mu g/mL$)[82]。从 *Homopymia conferta* 中分离得到的 aurantoside C 是一种新的 tetramic acid glycoside 类化合物[83]。

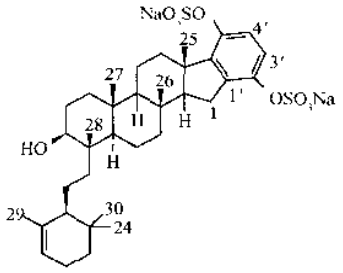
从海绵动物中发现的具有抗菌活性的生物碱有：从 *Axinella* sp. 中分离得到的咪唑并吡咯类生物碱 axinellamines A～D，其中 axinellamine B～D 对 Helicobacter pylori 的 MIC = 1000μmol/L(MIC = minimum Tnhibitory Concentration)[84]。从 *Petrosia similis* 中分离得到的二氢异喹啉类生物碱[85]。从 *Agelas nakamurai* 中分离得到的二聚溴代吡咯类生物碱[86]。另外，同样从 *Agelas nakamuri* 中分离得到的单溴代吡咯生物碱、mukanadins A～C[87]和 slagemins A～C[88]。则未见有关其生物活性的报告。

此外，从 *Aplysina auliformis* 中分离的溴代酪氨酸衍生物，在体外有轻向的蛋白合成抑制作用[89]。从 *Psammaplysilla purpurea* 和 *Aplysinella* sp. 也分离得到几种溴代酪氨酸类衍生物，其中有的化合物中带有罕见的氰代酰胺基，这是此类基团在天然产物中是十分罕见的[90,91]。从 *Stelletta* sp. 中分离得到一种倍半萜生物碱(homosespterpene amide of 1-guanodinopropyl-3-methlhistamine)可抑制 Ca^{2+}/Ca^{2+} 调蛋白依赖性磷酸二酯酶，在 100μmol/L 浓度下可到达 40% 抑制率[92]。

四、萜　　类

1. 三萜类化合物

虽然海洋生物中富含异戊二烯类化合物，但是三萜类化合物却较少从海绵中获得。从海绵 *Haliclona* sp. 和 *Adocia* sp. 及 *Adocia aculeate* 中分离得到一系列三萜氢醌类磺酸盐 adociasulfates 1～9，其中 adociasulfate 1 结构如下：

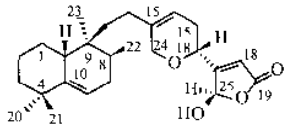


adociasulfate 类化合物可抑制动力蛋白，机制是作用与动力蛋白的功能结构域(moter domain)，模拟微管蛋白的功能[93,95]。该类化合物具报道还具有抗 HIV 逆转录酶活性[96]。

从 Axinellisae 科海绵 *Ptilocauils spiculifer* 中获得三种新的三萜类化合物：dihydroardenone、abudinol B 和 muzitone。从 *Axinella weltneri* 中获得五个新的三萜类化合物：sodwanones N～R，其中许多 sodwanone 类化合物具有细胞毒活性，sodwanone H 的活性最好，对人肺癌细胞 A-549 的 IC_{50}值为 0.02μg/mL[97]。另外，还从印度尼西亚产的海绵 *Hyrtios erectus* 中获得一个新的无环二酮三萜类化合物[98]。

2. C_{25}萜类

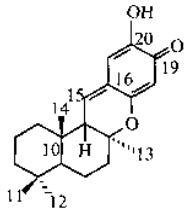
从海绵 *Fasciosciongia cavernosa* 中分离得到的二倍半萜是 cacospongianolide[99]（分自 *F. cavernosa* 中的一种具强细胞毒性的代谢产物）的衍生物，命名为 cacospongionolide F：



对海虾(brine shrimp)有强烈毒性 $IC_{50}=0.17\mu g/mL$，对革兰氏阳性菌有强的抑制作用：对 *Bacillus subtilis* 的 MIC = 0.78μg/mL[100]。从海绵 *Coscinoderma* sp. 中分离得到一种新的二倍半萜硫酸盐 halisulfate 7[101]。halisulfate 类化合物曾报道具有抗菌作用，抑制磷脂酶 A_2(phospholipase A_2)和抑制由 PMA 诱导的炎症反应[102]。1999 年，有关二倍半萜的报道还有从我国产海绵 *Phyllospongia foliascens* 中分离得到的 phyllofolactones C 和 D[103]。从 *Strepsichordaia lendenfeldi* 中分离得到三种 scalaranebased 二倍半萜[104]，以及从海绵 *Fasciospongia cavernosa* 中分离得到的 21 碳的萜类内酯，从生源角度该化合物为二倍半萜的衍生物[105]。

3. 二萜类

1999 年，有关海绵二萜的报道主要是一些四环二萜类化合物。从 *Hyrtios* 属中分离得到一种抗菌作用的二萜化合物，其结构如下：



在浓度为 50μg/盘时产生 9mmr 抑菌圈，对 KB 细胞有中等强度的细胞毒性($IC_{50}=6\mu g/mL$)，但是海虾的毒性则很小($LD_{50}\approx 20\sim 30\mu g/mL$)，同时该化合物对氯喹敏感的疟原虫 F32 和氯喹不敏感的 FCBI 和 PFB 株的体外 IC_{50}值分别为 0.4μg/mL、1.4μg/mL、1.2μg/mL[106]。从 *Spongia matamata* 中分离得到六种

新的四环二萜化合物，在盐水虾致死性筛选中表现出中等强度的毒性[107]。另外，从非律宾产的 *Spongia* sp. 中也分到 4 种四环二萜类化合物 spongiabutenolides A～D[108]。从海绵 *Sigmosceptrella* sp. 中分离得到 3 个新的具有环状过氧基团的二萜(nortcxpenc cyclic peroxide)[109]。

4. 倍半萜类

从海绵 *Dysidea herbacea* 中分离得到一种具有抗污损(antifouling)作用的倍半萜化合物，可驱散蓝贝(*Mytilus edulis galloprovincialis*)的附着[110]。台湾学者从海绵 *Parahigginsia* sp. 分离得到 5 个新的倍半萜化合物：parahigginols A～D 和 parahigginic acid，在体外对 P_{388}、KB16、A549、HT-29 细胞株表现中等强度细胞毒性[111]。另外，从海绵 *Smenospongia* sp. 中分离得到一种新的倍半萜烯季酮酸衍生物(tettonic acid derivative)[112]。从 *Axinyssa* 属海绵中分离得到 3 种含氮的红没药烯型倍半萜化合物[113]。

五、肽类化合物

从海绵动物中已经分离得到大量的肽类化合物，大多数此类化合物都是含有特殊氨基酸或非氨基酸残基，其中许多是具亲脂性的环肽类化合物。该类化合物在 1980 年 Ireland 和 Schener 自被囊动物 *Lissolinum Patella* 体内发现 ullcyclamide 及 cyclamide 之前尚不为人知。它们可能并不是由核糖体途径合成的，而是有机体的次生代谢产物。多肽类不仅结构新颖，而且常具有显著的生理活性，如抗肿瘤、抗病毒、抗菌、免疫调节等。*Theonella*(order lithistida)属海绵动物中富含肽类化合物[114]。1999 年，报道的海绵多肽产物也多出自该属动物。

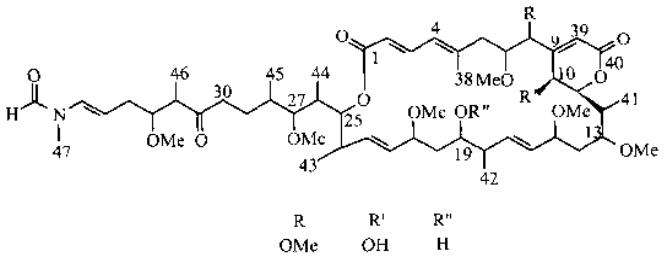
从 *Theonella swinhoci* 和 *T. mirabilis* 中分离得到 4 种新的 depsipeptides 类化合物：papuamides A～D(由 3-Ohleu、3-MeOAla、Gly1、Ala、NmeThr、β-OMeTyr、HPr 七肽通 Hpr 的 COOH 与 3-OHLeu 的羟基成酯)，多肽结构中具有不寻常的氨基酸，包括 3,4-二甲基谷氨酰胺、β 甲氧基酪氨酸、3-甲氧基缬氨酸、2,3-二氨基丁酸和 2-氨基-2-丁烯酸残基。papuamides A～D 是首次发现的在海洋天然产物中有 3-羟基亮氨酸和同型脯氨酸残基的多肽。该类多肽中还含有的 2,3-二羟基-2，6，8-三甲基-(4*Z*，6*E*)-二烯十酸残基，该化合物为首次报道。药理活性筛选表明 papuamide A 可保护 CEM-SST 细胞免受 HIV-1_{RF}的感染，对 HIV 的抑制效果呈剂量-效力相依赖的关系。EC_{50}(50% effective concentration)为 3.6ng/mL，同时评价了对 T 细胞的细胞毒性，IC_{50}(concentration inhibiting growth or viability of uninfected control cells by 50%)值为 74 ng/mL。Papuamide A 具有特征性的细胞毒活性，对多抗药(multi-drug-resistant)细胞株相对敏感，而白血病细胞株则对其相对耐受[115]。

从 *Theonella* 属海绵动物中还分离得到另外两种 depsipeptrides 类化合物。其氨基酸序列为 Val-MeLeu-Thr-βAla^1-Leu^1-(MeIle^1)-βAla^2-allo-Ile-MeVal-MeAla-BAla^3-Leu^2-(MeIle)^2，其中 Thr 的-OH 与(MeIle^2)的羧基缩合成环形多肽。两化合物的不同之处在碳端 Val 残基的游离 α-MH_2 修辞的不同。化合物表现出一定抗革兰氏阳性菌和真菌的活性，并对鼠白血病细胞 L_{1210}有细胞毒性(IC_{50} = 9.0μg/mL 和 7.5μg/mL)[116]。从 *Theonella* 属中还分得两种环肽类(cyclic peptide)化合物 keramamides M 和 N，两者都具有磺酸基结构，含有 2-溴-5-羟基色氨酸(BhTrp)、α-氨基丁酸(Aba)、Ornithine 等特征分子残基。体外药理活性筛选表明对 L_{1210}的 IC_{50}值为 2.4μg/mL 和 2.8μg/mL，对 KB 细胞的 IC_{50}值分别为 6.0μg/mL 和 7.5μg/mL[117]。从 *Theonlla swinhoei* 中还分到一种环肽 barangamide A，但并未见有关活性报道[118]。从 *Theonella* 属海绵中还分离得到一种线性多肽 koshikamide A1，氨基酸序列为 Phel-Meval1-MeAsn-MeaILe-MeVal2-MeLeu-Asn-Phe2-Pro1-Pro2，N 端 Phe1 的-NH_2 与甲氧基乙酸成酰胺。该化合物对 P_{388}细胞的 IC_{50}值为 2.2μg/mL[119]。此外，从海绵 *Jaspis splendans* 和 *Cymbastela* sp. 中分别分离得到一系列 desipetides 化合物、jaspamide B 和 C、geodiamolides J～P 均表现出中等强度的细胞毒活性[120,121]。

六、大环内酯类

从 *Neosiphonia superstes* 和 *Reidispongia coerulea* 中分离得到 4 个新的大环内酯类(macrolide)化合物：

sphinxolides E～G 和 reidispongiolide C。其中 sphinxolide E 的结构如下：

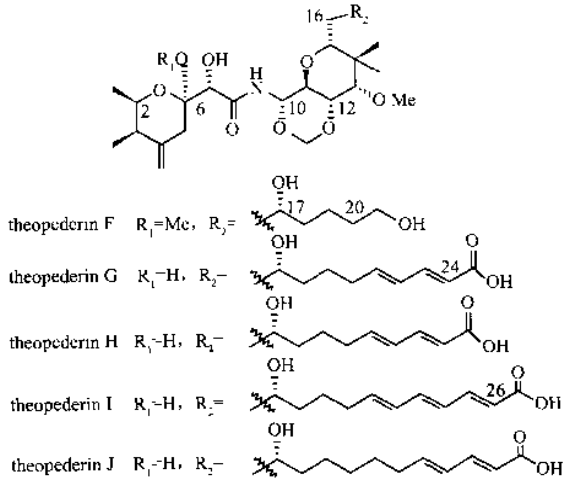


R	R'	R''
OMe	OH	H

26 元内酯环是该类化合物的特征。该类化合物的药理学研究表明 sphinxolide 可阻止分裂细胞由 G2 细期进入 M 期并诱导细胞凋亡[122]，其作用靶点可能是抑制缍体的形成。更具价值的是，sphinxolide 类化合物可抑制由于 *P*-glycoprotein 蛋白基因过度表达而导致肿瘤的多药抗性(MDR)。这类化合物十分有潜力发展成为抗肿瘤新药[123]。从海绵 *Ircinia* sp. 和 *Amphimedon* sp. 中也分离得到了几种大环内酯类化合物：haterumalide NA-NE 和 nematocide。Haterumalide 是 polyketide 类化合物，其中 haterumalide NA 对 P_{388}细胞体外 $IC_{50}=0.32\mu g/mL$，对小鼠的急性毒性表明该化合物有中等强度的毒性 $LD_{99}=0.24g/kg$[124]。nematocide 具有杀灭线虫(nematocidal)的作用[125]。

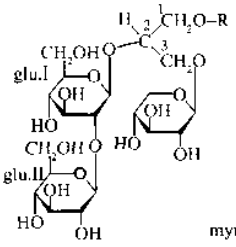
七、其他类型的化合物

从 *Theonella swinhoci* 中分离得到 5 种新的化合物 theopederin F～J。其中 theopederin F～J 的结构如下：



在分离该类化合物的过程中，作者采用有基因缺失突变的出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* 以期发现具有选择性生物活性的化合物，而不是非特异性的毒素。*Theonella swinhoci* 的脂溶性提取物可抑制 *erg6* 基因突变的酵母(该突变体缺失 SAM：Δ^{24}-甲基转移酶，该酶是合成真菌细胞膜甾体 ergosterol 所必需的)。所得化合物 theopederin F 对 *erg6* 突变的酵母在浓度为 1μg/盘时产生 12mm 的抑菌圆，而对野生型酵母要产生 11mm 的抑菌圆需要 10μg/盘的浓度，同时该化合物对 P_{388}体外 $IC_{50}=0.15ng/mL$。theopederin G～J 有类似活性[126]。

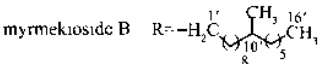
Ras 原癌基因(oncogene)的激活广泛存在于各种人类肿瘤中，因此选择性的抑制 *ras* 癌基因功能的化合物有望成为一类新的抗肿瘤药物。采用此方法从海绵 *Myrmekioderma* sp. 中分离 2 种 mono-o-alkyl-diglycosylglycerol 类化合物，命名为 myrmekioside A 和 B：



myrmekioside A R=



myrmekioside B R=



Myrmekioside A 和 B(在 5μg/mL)可逆转由 H-ras 转导的 NIH3T3(成纤维细胞)的肿瘤细胞形态为正常的母系 NIH3T3 细胞,而且 A 化合物可使 NTH3T3 细胞停止在 G_1 期[127]。

1999 年,报道其他海绵还包括分自 *Siliquariaspongia japonica* 的 polyene tetramic acid 化合物 aurantosides D－F,具抗真菌和细胞毒活性[128]。从海绵 *Petrosia* sp. 得到的环多醇衍生物,该化合物在体外可抑制 SV40 DNA 的转录,并对肿瘤细胞有选择性细胞毒作用,该化合物对 A549 和 SK-MEL-2 的细胞毒活性很弱,但是对 SK-OV-3、XF498、HCT15 有中等强度的细胞毒作用(在 10μg/mL 水平)[129]。从海绵 *Oceanapia phillipensis* 中分离得到一种 bis-α,ω-amino alcohal glycoside 类化合物具有抗真菌的活性[130]。从海绵 *Spirastrella abata* 分离得到一系列卵磷酯类化合物可抑制 HMG-CoA 还原酶,从而抑制胆固醇[131]。

八、研究实例:棕色扁海绵中具抗癌活性的环肽化合物的提取分离与结构测定

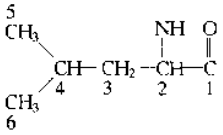
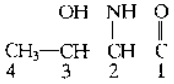
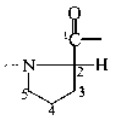
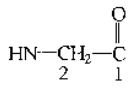
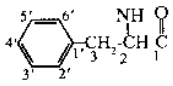
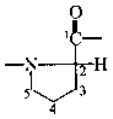
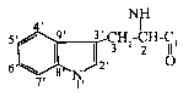
近十几年来,系统而有意识地去分离海绵中的肽类化合物,从中得到的不少肽类化合物有强的细胞毒、抗菌、抗真菌、免疫抑制等活性,天然产物化学家获得的海绵肽类化合物通常是具有环肽结构的脂溶性分子,该类化合物在 1980 年被 Ireland 和 Schener 自被囊动物 *Lissolinum Patella* 体内发现 ullcyclamide 及 cyclamide 之前尚不为人知。它们可能并不是由核糖体途径合成的,而是有机体的次生代谢产物。多肽类不仅结构新颖,而且常具有显著的生理活性。环肽的研究已成为海洋天然产物研究领域中十分活跃,富于机遇与挑战,又颇多收获的领域。*Theonella* 属海绵动物以富含肽类化合物著称。其他属海绵动物如 *Axinella*、*Discodermia*、*Geodia* 等也分离得到肽类化合物。1993 年,Pettit 报道从 *Phakellia Costata* 中分离得到 phakellistatin 类化合物,通过体外和体内药理活性研究,该类化合物具有潜在的抗肿瘤活性[82]。

海绵样本采自中国南海西沙群岛永兴岛,经中国科学院青岛海洋研究所李锦和研究员鉴定为棕色扁海绵(*Phakellia fusca* Schimidt)。海绵动物(500g,干重)经 80% 乙醇提取后,浸提物溶于 9:1 甲醇-水中,用石油醚提取,萃取石油醚部分后,将甲醇-水部分加水稀释为 3:2,再用二氯甲烷萃取。最后得石油醚部分,二氯甲烷部分,甲醇-水部分。分别对所得三个部分层析分离得十个化合物。鉴定了其中的六个化合物。提取分离流程如图 20-4 所示。

化合物Ⅵ为一环七肽化合物,命名为 phakellistatin 12,为一新的化合物,体外抗肿瘤试验,证明对人肝癌 BEL-7402 细胞株具有显著的抑制作用,其半数有效浓度(IC_{50})小于 1×10^{-8}mol/L,化学结构测定如下。

化合物Ⅵ:化合物Ⅵ为白色粉末,极易溶于 CH_2Cl_2、$CHCl_3$、CH_3COCH_3、CH_3OH 等有机溶剂。^{1}H-NMR(600MHz,DMSO-d_6)和^{13}C-NMR(125MHz,DMSO-d_6)表明该化合物为多肽结构,^{1}H-和^{13}C-NMR 数据如表 20-5 所示。由^{13}C-NMR 中 170ppm 左右和 50～60ppm 的羰基碳和氨基酸 α-碳信号的个数推知化合物为七肽。ESI-MS 给出相对分子质量为 798。由于化合物^{1}H-NMR(DMSO-d_6,ppm)中无—NH_2 信号,—COOH 信号,且该化合物呈脂溶性,因此推断可能为 phakellistatin 类环肽化合物。根据 TOCSY,可知 0.9ppm 和 1.0ppm 处的两个甲基双重峰与 1.699(m, 1H)、1.628(m, 1H)、1.518(m, 2H)、4.475(m, 1H)为同一自旋系统,由于 HMQC 中 1.699(m, 1H)和 1.518(m, 2H)对应同一碳原子可知 1.699ppm 的单氢和 1.518ppm 中的一个氢原子组成一个裂分的 CH_2,4.475ppm 处单质子信号为氨基酸的 α-H,由此可推断分子中含有亮

表 20-5　phakellistatin 12 的^{1}H和^{13}C核磁共振数据

		^{1}H/ppm		^{13}C/ppm
Leu	H-2	4.48(m,1H)	C-1	169.90
	H-3	1.52(m,1H)	C-2	51.68
		1.69(m,1H)	C-3	40.02
	H-4	1.63(m,1H)	C-4	24.52
	H-5,6	0.90(d,3H,6.6Hz)	C-5,6	22.10,23.73
		1.00(d,3H,6.6Hz)		
	NH	7.13(d,1H,6Hz)		
Thr	H-2	4.25(m,1H)	C-1	172.06
	H 3	4.23(m,1H)	C-2	58.99
	H-4	1.03(d,3H,6Hz)	C-3	65.69
	OH	4.87(d,1H,5.4Hz)	C-4	20.76
	NH	7.84(d,1H,9Hz)		
				
Pro Ⅰ	H-2	4.26(m,1H)	C-1	171.09
	H-3	1.82(m,1H)	C-2	61.88
		2.27(m,1H)	C-3	30.11
	H-4	1.93(m,2H)	C-4	24.53
	H-5	3.51(m,1H)	C-5	46.27
		3.69(m,1H)		
Gly	H-2	3.95(d,1H,18.6Hz)	C-1	168.33
		4.17(d,1H,18.6Hz)	C-2	42.98
	NH	7.55(s,1H)		
Phe	H-2	4.15(m,1H)	C-1	170.05
	H-3	2.95(t,1H,13.2Hz)	C-2	56.60
		3.17(m,1H)	C-3	37.27
	H-2′,6′	7.10(d,2H,6.6Hz)	C-1′	137.80
	H-3′,5′	7.24(t,2H,6.6,7.2Hz)	C-2′,6′	128.71
	H-4′	7.19(t,1H,6,7.8Hz)	C-3′,5′	128.49
	NH	8.29(d,1H,11.4Hz)	C-4′	126.74
Pro Ⅱ	H-2	3.44(d,1H,7.2Hz)	C-1	170.69
	H-3	1.50(m,1H)	C-2	60.00
		1.04(m,1H)	C-3	40.60
	H-4	0.19(m,1H)	C-4	28.92
		0.32(m,1H)	C-5	45.68
	H-5	2.91(m,1H)		
Trp		2.37(t,1H,10Hz)		
	H-2	4.43(m,1H)	C-1	171.60
	H-3	3.10(m,2H)	C-2	53.65
	H-2′	7.34(s,1H)	C-3	26.82
	H-4′,7′	7.32(d,2H,3.6Hz)	C-2′	124.23
	H-5′	6.91(t,1H,7.2Hz)	C-3′	108.92
	H-6′	7.04(t,1H,7.2Hz)	C-4′	124.29
	H-1′	10.79(s,1H)	C-7′	111.53
	NH	9.33(s,1H)	C-5′	121.39
			C-6′	118.27
			C-9′	127.30
			C-8′	136.24

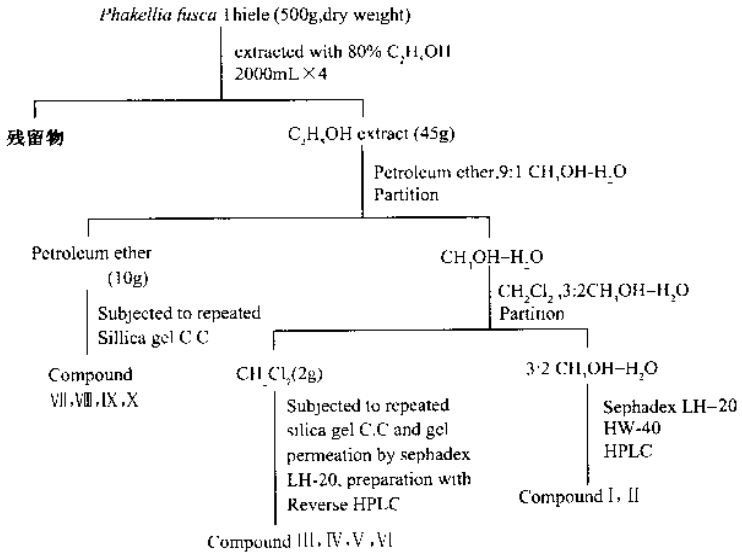


图 20-4 提取分离流程图

氨酸残基。根据 TOCSY,1.030ppm 处的一个甲基二重峰信号和 4.876(d,1H,J=5.4Hz)、4.246(m, 3H)处的质子为同一自旋系统,根据 DQCOSY,4.876ppm 处的质子信号与 4.246ppm 处质子信号有偶合,1.030ppm 处的甲基信号同样与 4.246ppm 处的质子信号有偶合,而 1.030ppm 处的甲基与 4.876ppm 处的质子信号无偶合,可推断该自旋系统应为苏氨酸残基,Thr 的 α,β 氢同处于 4.246ppm 处,4.876ppm 处为羟基信号。根据 TOCSY,1.930(m, 2H),1.822(m, 1H),2.270(m, 1H)与 4.260(m, 1H)和 3.511(m, 1H),3.691(m, 1H)同属一个自旋系统,且根据 HMQC,3.511(m, 1H),3.691(m, 1H)为一裂分的 CH_2,可推知分子中含有脯氨酸残基。同理根据 DQFCOSY(CD_3OD),可推断分子还有另外一分子的脯氨酸残基。根据 TOCSY,可知 δ 3.940(d, 1H)和 4.165(d, 2H)与 7.551(s, 1H)为一个自旋系统,由 HMQC 可知 3.940ppm 的单氢和 4.165ppm 处质子信号中的一个氢为一个 CH_2 裂分后的信号,由此推断分子中含有甘氨酸残基。根据^{1}H-NMR和^{13}C-NMR谱可知分子中一个单取代苯环和一个邻二取代苯环,推断分子中可能有苯丙氨酸和色氨酸。由 TOCSY,可知 10.788ppm 处的单峰和 7.343ppm 处的单峰有偶合,根据吲哚化合物的谱学规律,2 位的氢一般在较低场,10.788ppm 处的质子应为吲哚环 NH,7.343ppm 的质子为吲哚 2 位氢。HMBC 中 10.788ppm 的 NH 质子与 127.3ppm 的碳有远程相关,该碳应为吲哚环 9 位碳。根据 TOCSY,9.326ppm 的酰胺质子信号与 4.432(m, 1H),3.10(m, 2H)为同一自旋系统,由 HMBC 可知 3.10(m, 2H)的质子信号与 127.3ppm 处吲哚环的 9 位碳有远程相关,这验证了色氨酸的存在。根据 TOCSY,8.290ppm 处的酰胺质子与 4.146(m,1H),2.950(t,1H,13.2Hz),3.167(m,1H)为同一自旋系统,由 HMQC 可知 2.950(t,1H,13.2Hz)和 3.167(m,1H)为 CH_2 裂分后的信号。由 HMBC 可知 CH_2 与苯环碳有远程相关,这验证了苯丙氨酸的存在。综上所述,该化合物分子中包括两分子脯氨酸,以及甘氨酸、亮氨酸、苏氨酸、苯丙氨酸、色氨酸各一分子。该分子组成符合 ESI-MS 给出的相对分子质量(M=798)。同时由于^{1}H-NMR图谱中仅见五个酰胺质子信号。该分子组成解释了氢谱的这一特征:作为亚胺基氨基酸的脯氨酸成肽后就不再有酰胺质子。该环肽的序列信息主要来自 NOESY 谱,质子间的主要 NOE 情况如图 20-5 所示。

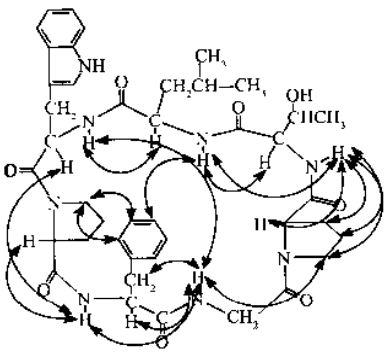


图 20-5 化合物Ⅵ的 NOE 相关简况

第五节　海参皂苷

海参皂苷为棘皮动物海参的主要次生代谢产物，在动物体内的主要功能可能是作为一种化学防御物质。海参是我国著名的食品，也是传统补药，具有补肾壮阳、养阴润燥的功效。

海参为棘皮动物门(Echinodermata)游走亚门(Eleutherozoa)海参纲(Holothuroidea)动物。常生长于水流平静、海藻茂盛的岩礁上或浅海泥沙中。

一、形　态

海参一般呈柔软的圆柱形，成蠕虫状，通常有前、后、背腹之分。口在前端，肛门在后端。背腹略扁，左右对称体形。管足排列不规则，仍有运动功能，有的管足已退化成肉质棘突或消失。口周围的管足演变成触手，一般为 20 个，成 5 行环列在口的周围。触手的形状有楯状、枝状、羽状和指状，是分类的重要依据。海参的水管系统发达，开口于体腔内。消化管细长盘曲，后端膨大成排泄腔。排泄腔的部分腔壁突向体腔伸出 2 条树状管，有呼吸和排泄功能，称为呼吸树或水肺。海参大多数为雌雄异体，生殖腺 1 个，由许多分枝细管组成，一般呈从生状，开口于体前端的背面。卵在水中受精，发育过程经过耳状幼虫期和桶状幼虫期。海参的内部构造见图 20-6。

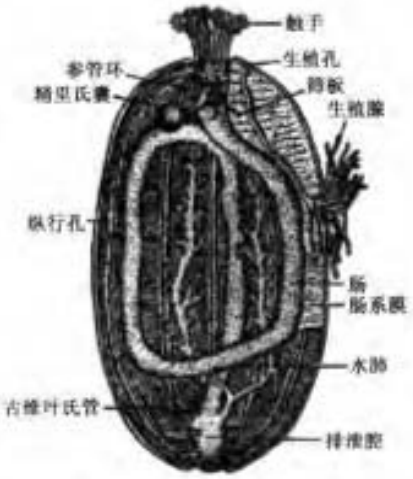


图 20-6　海参的内部构造

二、种类与分布

海参约有 500 余种，在世界各海域均有分布，以印度洋和西太平洋分布最多。我国约有 60 多种，全国各海域均有分布，南方海域分布的种类及数量较多。其中约 30 种可供食用和药用。药用种类多归属于楯手目(Aspidochirota)的刺参科(Stichopodidae)和海参科(Holothuridae)。常见药用种类如刺参 *Stichopus japonicus* Selenka、绿刺参 *S. chloronotus* Brandt、花刺参 *S. Uariegatus*(Sempen)、梅花参 *Thelenota ananas*(Jaeger)、黑乳参 *Microthele nobilis*(Selenka)和辐肛参 *Actinopyga Lacanora*(Jaeger)等。

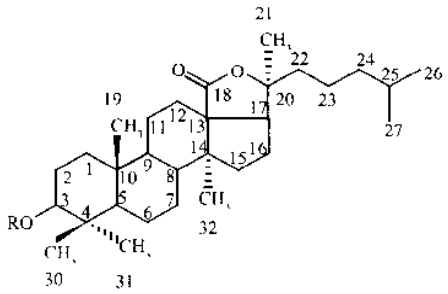
三、化学结构

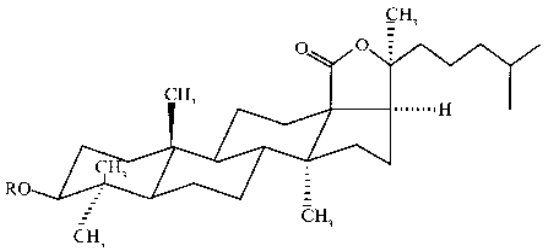
20 世纪 40 年代中期，Nigrelli 和 Yamanouchi 分别从阿氏辐肛参和荡皮海参的体壁中分离到一种有毒的物质，称为海参毒素。其化学结构经历较多的时间才得以确定为三萜皂苷类化合物。目前已发现的海参皂苷约有 100 余种。

1. 结构特点

(1) 基本母核

苷元具有海参烷的基本母核，为三萜类化合物，含 30 个碳原子，由 5 个环骈合而成，A/B 环、B/C 环、C/D环均为反式稠合。在 20 位连有 6 个碳原子的侧链。含有 5 个角甲基。





(2) 取代基

1) 苷元的3位上有羟基取代,与糖结合成苷。

2) 苷元的12、16、17常有羟基、乙酰氧基取代,羰基常取代于16位或侧链上,侧链上有时成环氧结构。

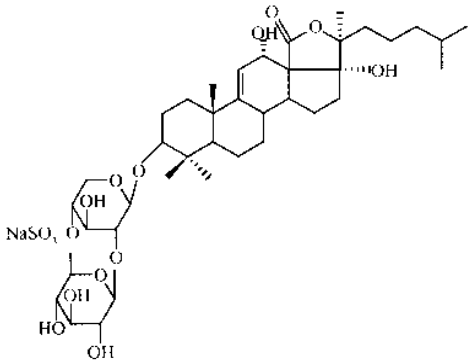
3) 苷元结构上常出现1至数个双键。常见于$\Delta^{7(8)}$、$\Delta^{8(9)}$、$\Delta^{9(11)}$、$\Delta^{24(25)}$、$\Delta^{25(26)}$等位置,在侧链上有时出现共轭双键。

4) 糖链部分常由葡萄糖、木糖、喹啉糖、甲氧基葡萄糖等组成,常具有1至数个硫酸酯基取代。

2. 结构分类

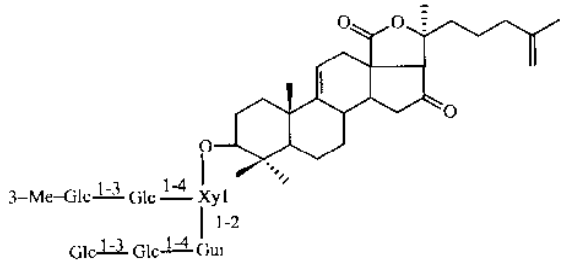
(1) 海参烷型(holostane)

海参烷型皂苷如从棘辐肛参(*Actinopyga echinites* Jage)中分离到的echinoside B。其结构如下:



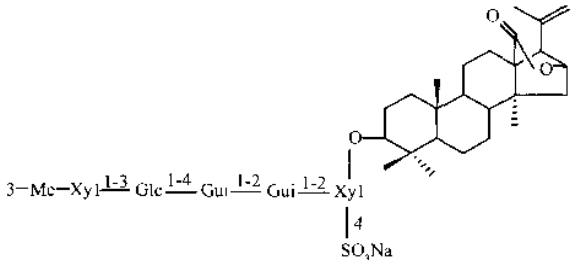
(2) 16位取代海参烷型

16位取代海参烷型皂苷如海参皂苷A(holothurin A)是一种分布最广的皂苷,存在于 *Holothuria* 和 *Actinopyga* 两属26种海参中,其化学结构如下:

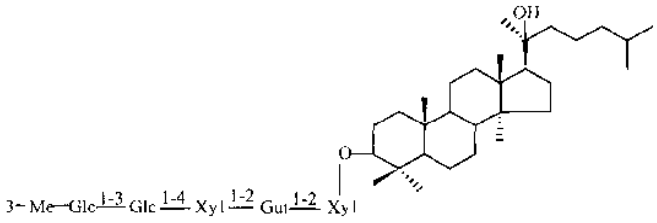


(3) 非海参烷型(non-holostane)

苷元上无内酯环或内酯环为18(16)内酯,目前发现的数量极少。如来自五角瓜参属的 *Pentacta australis* 中的DS-penaustroside A和来自 *Pentamera calcigera* 中的calcigeroside B。



DS-penaustroside A



calcigeroside B

四、提取分离方法

1．样品处理

新鲜的海参采集后，洗去泥沙，在运输过程中需加入冰块或进行冰冻，提取前将海参个体切碎或搅碎成肉末状。有时也可将海参采集后剖开，去除内脏、晒干，然后粉碎成粗粉。

2．溶剂提取

粗提多采用含水乙醇(50%～80%)或甲醇提取，冷浸或加热回流。提取液蒸去溶剂后得流浸膏。由于海参中含有较多的盐分，盐的存在会引起萃取时的乳化以及层析分离的效果。因此，在分离纯化之前，需先将所含的盐分除去。较好的除盐方法是采用大孔树脂法，既可以除去提取物中的盐分，又可以富集皂苷类成分。用于脱盐的大孔树脂有 Amberlite XAD-2、Polychrom-1 和国产的 DA101 等。其方法为先将大孔树脂预处理后，装柱，将醇提取的海参流浸膏用适量水溶解，通过大孔树脂柱，用水洗涤除去盐分及糖类等水溶性杂质，至洗涤液无色，接着用 50%乙醇洗涤，或用甲醇、丙酮等溶剂洗涤，洗脱液减压回收溶剂，即可得到粗总皂苷部分。粗总皂苷用水均匀分散，水溶液用二氯甲烷萃取，除去脂溶性成分，接着用水饱和的正丁醇反复萃取，正丁醇萃取液减压回收，即得海参皂苷提取物。

3．层析分离

海参总皂苷提取物中通常含有十几种甚至几十种结构类似的皂苷成分，必须采用多种现代层析分离方法，才有可能获得纯的单体化合物。常用的层析方法主要是采用硅胶分配柱层析，以不同比例的氯仿-甲醇-水或水饱和的正丁醇的混合液作洗脱剂。对于极性较大的皂苷，可适当增大甲醇和水的比例，取其下层溶液作洗脱剂，如氯仿-甲醇-水[6.5:3.5:1(下层)]。有时为了改变洗脱剂的极性，适量加入一定量的乙酸乙酯。采用高效硅胶薄层层析，以 10% H_2SO_4 作显色剂检查各流分的层析效果，收集不同组分。再反复进行硅胶柱层析或反相硅胶柱层析，反相硅胶常采用 C_{18} 硅胶作填充剂，用常压或加压柱层析，常可达到较好的分离效果。对于某些结构非常类似的成分，经上述方法达不到分离，可采用高效液相层析法，用 C_{18} 反相半微量制备柱进行分离纯化，以不同比例的甲醇/水或乙腈/水作流动相进行洗脱。由于多数皂苷仅有一个双键，紫外吸收不显著。因此，不能用紫外检测计进行检测，可改用示差折光检测计或光散射检测计进行信号的检测。选择适当的流动相是达到皂苷分离的关键因素，往往需要花费较多的时间进行摸索，可参考文献资料，借鉴前人的经验。

五、结构测定

海参皂苷具有较复杂的化学结构，相对分子质量较大，一般都在 1000 以上，分子中连有多个取代基，所连接的糖的种类和数量均不相同，往往有硫酸酯基的取代，这些都给结构测定工作带来一定的难度。

1. 化学方法

(1) 定性鉴别反应

1) Liebermann-Burchard 反应(乙酸酐-浓硫酸反应)。海参皂苷显红紫色。

2) Molish 反应(α-萘酚反应)。海参皂苷显紫色。

(2) 脱硫反应

取适量海参皂苷，溶于 2 倍的吡啶-二氧六环(1:1)的混合溶剂中，加热回流 3～4 h，反应物加水稀释，以正丁醇萃取，萃取液减压回收，残留物经硅胶柱层析或 ODS 反相层析分离纯化，即得海参皂苷脱硫衍生物。通过比较脱硫前后分子中碳原子的化学位移的改变，确定硫酸酯基的数目和连接位置。

(3) 水解反应

1) 强酸水解。取适量海参皂苷溶解于 2 mol/L 的盐酸或三氟乙酸中，100～120 ℃封管加热 1～2 h，反应产生的苷元用二氯甲烷萃取。水层回收至干。溶于适量的吡啶中，加入适量的盐酸羟胺，100 ℃反应1 h，得糖醇衍生物，加入适量的乙酸酐，100 ℃继续反应1 h，得糖腈乙酰酯衍生物，进行 GC-MS 分析，与标准糖的糖腈乙酰酯衍生物对照，比较保留时间确定皂苷中所包含糖的种类，根据峰面积，推测单糖的比例。

2) 温和酸水解。样品采用 0.5%～0.1% 的盐酸甲醇或硫酸水溶液加热回流 1～3 h，可使海参皂苷水解除去部分糖，生成多种不同的次级苷，通过测定各种次级苷的结构，推测结构复杂的海参皂苷的糖的连接顺序。

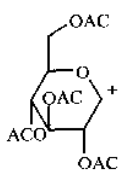
3) 酶水解反应。样品溶于乙酸钠-乙酸缓冲溶液中(pH=5.0)，加入葡萄糖苷酶，于 37 ℃搅拌 3 天。反应混合物加入正丁醇于 50 ℃加热 5 min，过滤，滤液用正丁醇萃取，正丁醇萃取液用水洗涤，然后减压回收，得到脱两分子葡萄糖的次级苷。

(4) 甲基化反应

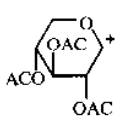
将海参皂苷溶解于适量的无水 DMSO 中，与 NaOH 反应 20 min 后，加入碘甲烷进行甲基化反应。生成的甲基化皂苷用氯仿萃取，再进行酸水解和乙酰化，得到的甲基化糖醇乙酰酯衍生物进行 GC-MS 分析。根据乙酰化的位置，推测皂苷中各个单糖之间的连接位置。

(5) 乙酰化反应

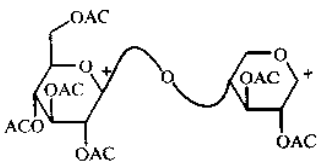
样品溶于吡啶-乙酸酐(2:1)的混合溶剂中，室温放置数小时或加热回流 10 min，反应物倒入冰水中搅拌，析出沉淀物，过滤得到乙酰化皂苷衍生物。必要时可通过硅胶柱层析纯化。将乙酰化皂苷衍生物进行 EI-MS 测定，分析裂解碎片离子，推测糖的连接顺序。也可将乙酰化衍生物进行 ^{1}H-NMR测定，通过分析乙酰基信号，推测糖的数目。



m/z 331
(四乙酰葡萄糖碎片离子)



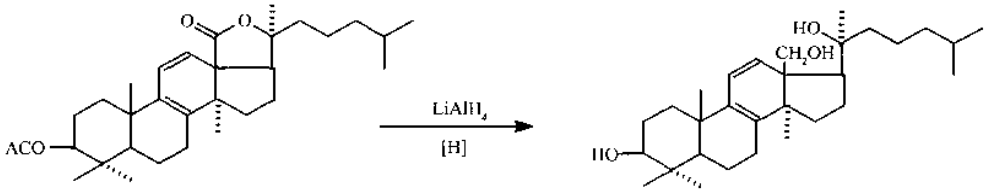
m/z 259
(三乙酰木糖碎片离子)



m/z 547
(六乙酰葡萄糖—木糖碎片离子)

(6) 还原反应[132]

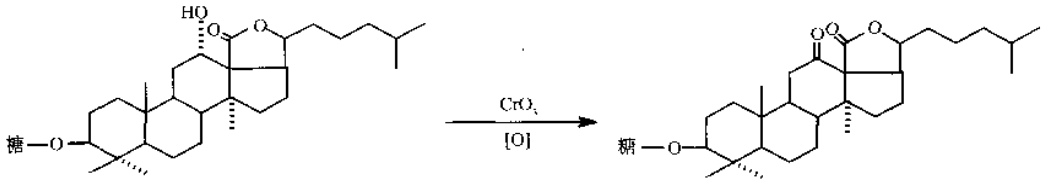
样品溶于四氢呋喃，滴加四氢铝锂的四氢呋喃混悬液，加入回流 1 h，反应混合液加入乙酸乙酯、水和 2 mol/L H_2SO_4 处理，乙酸乙酯提取液回收溶剂，得还原产物，经硅胶层析纯化，得到纯的还原产物。



(7) 氧化反应[132]

1) 氧化剂的制备。将 CrO_3 的吡啶液加入水饱和正丁醇中，放置 1 天，在 45℃ 以下减压回收溶剂，残留物加水，过滤，不溶物用水和氯仿洗涤，真空干燥，得氧化剂。

2) 氧化反应。样品溶于二氧六环-水(1:1)混合溶剂中，加入 2 mol/L H_2SO_4 和上述制备的氧化剂，于室温(20℃)搅拌 18 h，反应混合物用水稀释，用正丁醇萃取。正丁醇萃取液用 2 mol/L NaOH 水溶液洗涤，再用水洗涤，减压回收正丁醇，残留物经硅胶柱层析，以氯仿-甲醇-水(10:3:1，下层)作洗脱剂，得氧化产物。



2. 光谱方法

(1) 紫外光谱

海参皂苷一般含有 1 至数个孤立的双键，在 210nm 处出现吸收带，但由于皂苷的分子量较大的原因，吸收带往往不显著，少数海参皂苷分子中含有共轭双键，在 230～250nm 处出现吸收带。

(2) 红外光谱

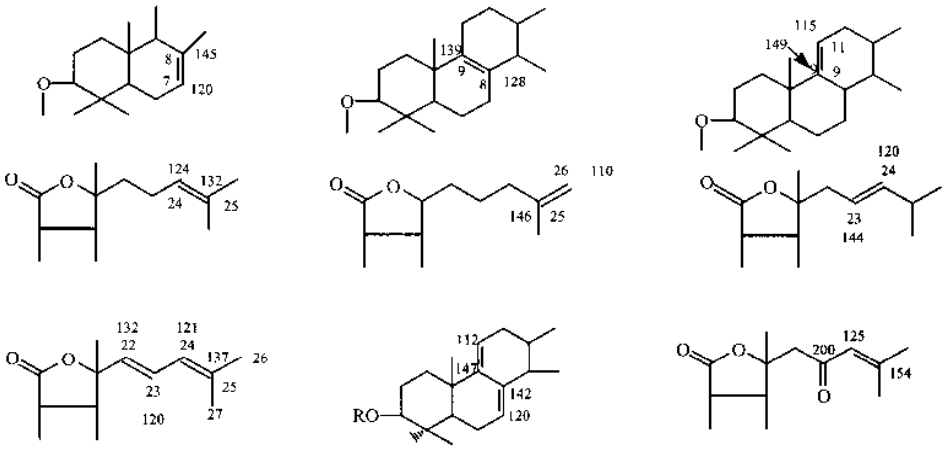
一般出现 3500cm^{-1}(羟基)、1640cm^{-1}(双键)、1750cm^{-1}(酯羰基)、1244cm^{-1}(酯键)、1070cm^{-1}(硫酸酯基)、1000cm^{-1}(苷键)等吸收带。

(3) 核磁共振氢谱(δ)

在 1.0～2.0 出现 5 个角甲基强的单峰信号，H-3 信号出现在 3.2(dd)，H-5 信号出现在 1.0(t)左右，H-9 信号出现在 3.4(dd)，H-17 信号出现在 2.6 左右，如 16 位有取代，H-17 为 d 峰，16 位无取代，H-17 为 dd 峰或 m 峰。16 位如有含氧基取代，H-16 信号出现 5.9 左右，为 ddd 峰或 m 峰。烯氢一般出现在 5.4～5.7，多为宽单峰。糖上的端基质子信号一般出现在 4.6～5.4 范围内。糖的其他质子信号出现在 3.8～4.5 的范围内。

(4) 核磁共振碳谱 (δ)

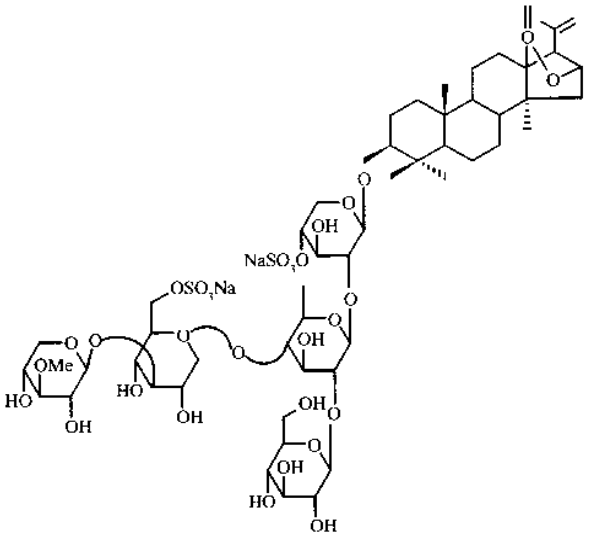
5 个角甲基的信号的化学位移出现在 17～33 范围内，其中 30 位角甲基处在较高场，32 位甲基处在较低场。18 位羰基碳信号的化学位移为 180 左右，其他位羰基碳出现在 210 左右。C-3 信号的化学位移为 88 左右。烯碳信号由于位置不同，有不同的化学位移，借此可用于确定双键在结构中的位置。常见的碳烯的化学位移如下：



端基碳的信号的化学位移在 103～106 范围内，不同的糖的端基碳化学位移均有所差异。如羟基被糖取代，所连接的碳原子发生苷化位移向低场位移 8～11，如羟基被硫酸酯基取代，则发生酯化位移向低场位移 5～8。

(5) 质谱

海参皂苷由于连接多个糖分子，没有挥发性且高温易分解，不能采用 EI-MS 进行测定，故常采用 FAB-MS 或 ESI-MS 进行测定，除了可以得到分子离子峰外，还能观察一系列逐个糖开裂产生的碎片离子以及脱硫酸酯基离子，可以帮助推测糖的数目、连接顺序及糖的种类。在 ESI-MS 的正离子谱中，可容易找到 M + Na峰，而在负离子谱中，则出现 M − Na 负离子。此外应用高分辨 ESI-MS 可以得到精密的分子量，从而推测出皂苷的分子式。calcigeroside D 的 ESI-MS 正负离子谱的裂解方式如图 20-7 和图 20-8[133]。



calcigeroside D

1095($M_{Na,Na}$-SO_3Na-Glc+2H+Na)$^+$
1009(1155-3-O-Me-Xyl+H)$^+$
993(1155-Glc+H)$^+$

1395($M_{Na,Na}$+Na)$^+$
1257($M_{Na,Na}$-SO_3Na+H+Na)$^+$
1155($M_{Na,Na}$-2SO_3Na+2H+Na)$^+$

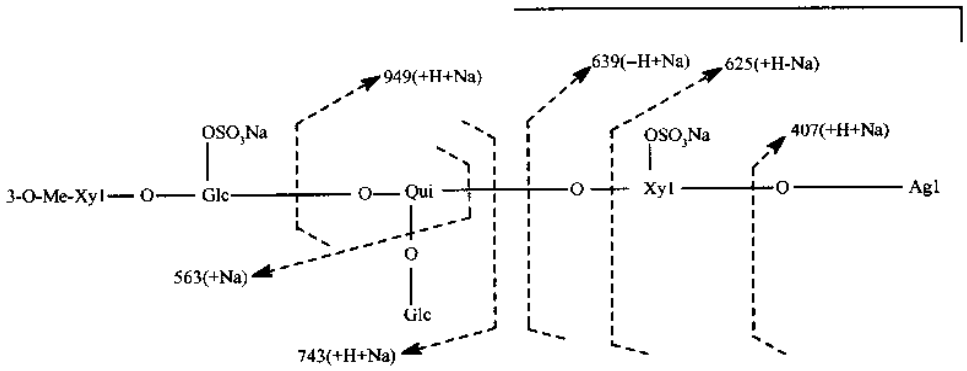


图 20-7　calcigeroside D_1 ESI-MS 正离子裂解方式

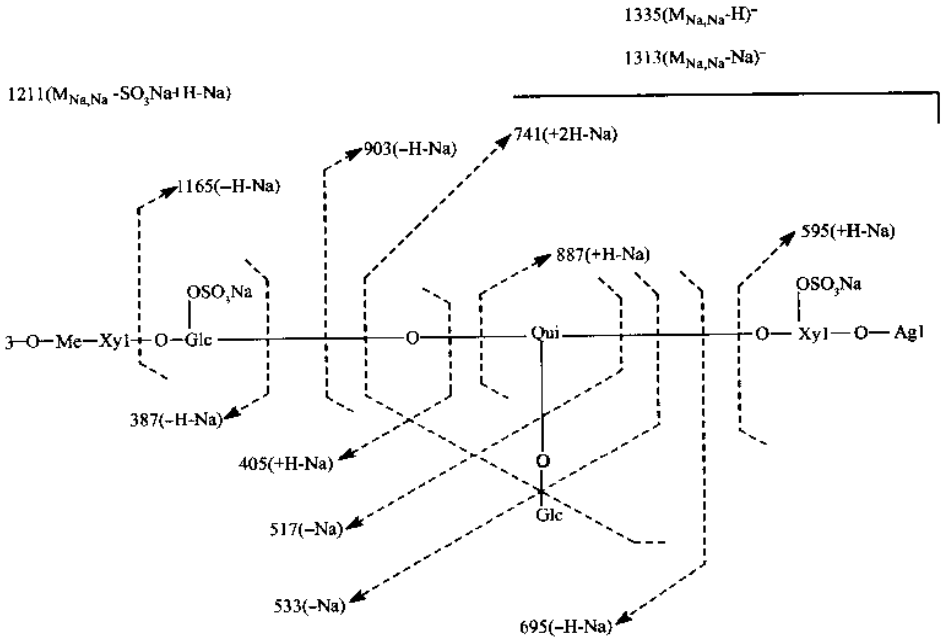


图 20-8　calcigeroside D_1 ESI-MS 负离子裂解方式

六、生物活性

海参皂苷能够与生物膜上甾体分子结合形成复合物，在膜上形成单一离子通道(solitary ion channels)和大的水孔(aqueous pores)导致生物膜溶解。此外，由于复合物的形成，增加了平滑肌细胞膜的 Ca^{2+} 通透性，对平滑肌产生收缩作用，同时对 Na^+-K^+-ATP 酶的活性产生抑制。主要生物活性如下。

1. 抗肿瘤活性

不少海参皂苷显示有细胞毒活性，如从 *Holothuria vagabunda* 中分离到的海参素(holothurin)能抑制

DNA 和 RNA 的合成，引起细胞有丝分裂过程产生异常，这些异常与肿瘤化疗药阿霉素(adriamycin)的效果相似，从而产生抗有丝分裂效应[134]。如从 *Staurocucamis liouvillei* 中分离到的 liouvilloside A 在 6.25～50μg 的浓度范围内对多种肿瘤细胞显示有明显的细胞毒活性[135]。从方柱五角瓜参中分离得到的 philinopside A 对 11 种人的肿瘤细胞均显示明显的细胞毒活性，同时还能抑制肿瘤新生血管的生成，动物体内试验，对小鼠 S-180 肉瘤抑制率为 59.4%。

2. 抗真菌活性

多数海参皂苷对真菌均有一定的抑制作用。如从二色桌片参中分离到的 intercendenside A 对白色念珠菌的 MIC_{80}为 16mg/L，对热带念珠菌 MIC_{80}为 128mg/L，对新生隐球菌 MIC_{80}为 64mg/L。

3. 溶血活性

绝大多数的海参皂苷有溶血活性[136]，因而限制了作为注射药物的使用。溶血作用与分子结构有密切关系，如苷元 16 位氧化为酮基后，溶血作用明显降低；与苷元相连的木糖 4 位上硫酸酯化后，使溶血作用增强；末端的 3-*O*-甲基葡萄糖的 6 位羟基硫酸酯化后则使溶血作用降低。

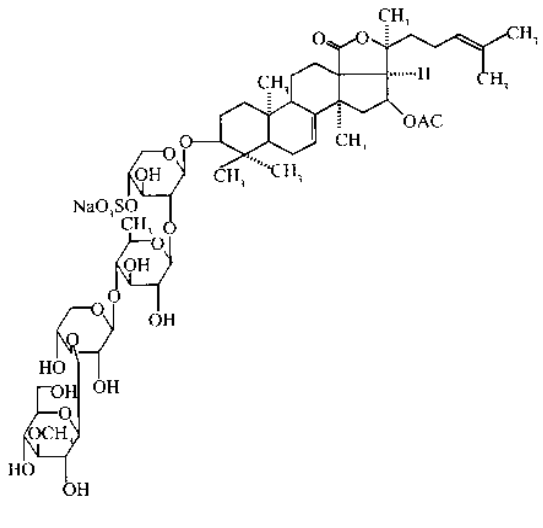
4. 抗病毒活性

少数海参皂苷对肝病毒和艾滋病毒有一定的抑制作用。

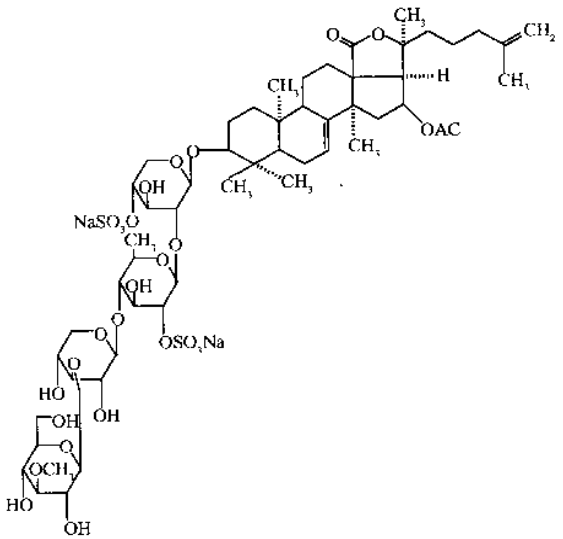
七、研 究 实 例

1. 方柱五角瓜参抑制血管生成化学成分研究

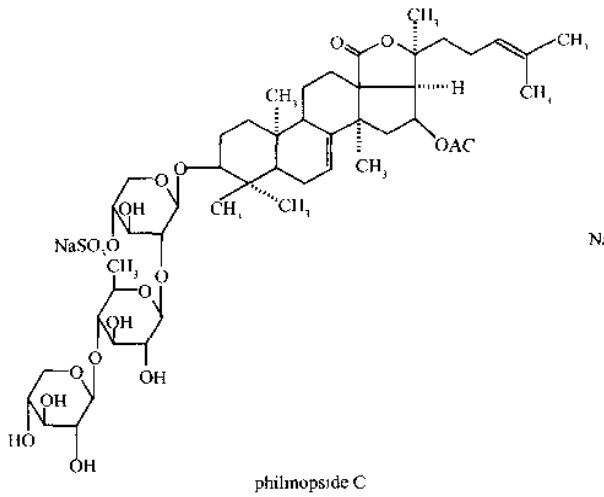
方柱五角瓜参为瓜参科棘皮动物 *Pentacta quadrangulasis* Lesson，体壁红色，长 5～10cm，背部有棘突。多生长于潮间带或沿岸浅海的石底，广泛分布于广东和福建沿海地区。民间用于治疗胃病。第二军医大学易杨华课题组对方柱五角瓜参进行了较系统的化学和药理活性研究，采用现代层析分离技术，从中分离出 4 种海参皂苷类成分，经多种光谱测定，确定了它们的化学结构和立体构型。分别命名为 philinopside A、B、C、D。化学结构如下：



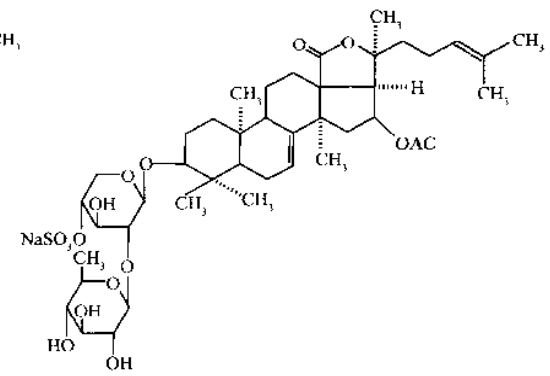
philinopside A



philinopside B



philmopside C



philinopside D

(1) 提取分离流程

采用稻瘟霉模型作为活性检测手段对方柱五角瓜参进行追踪分离，分离流程如下(MMDC:指菌丝体最小变形浓度，单位 μg/mL)。

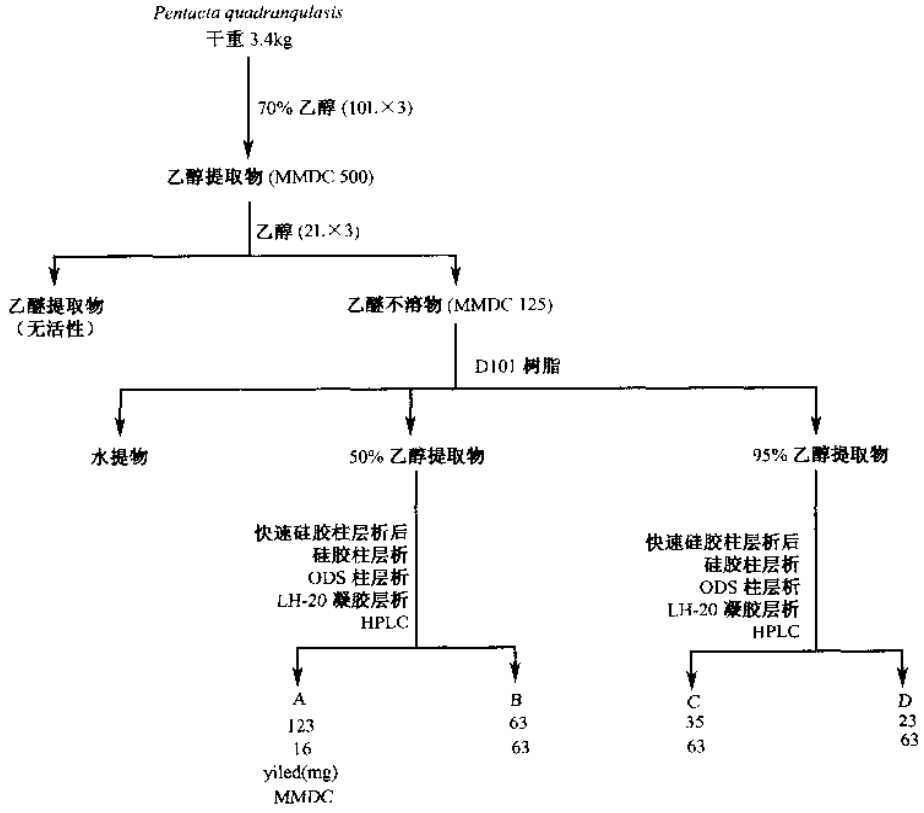


图 20-9　方柱五角瓜参皂苷分离流程图

(2) philinopside A(Ⅰ)的结构测定

白色无定形粉末，熔点 222～225℃(分解)，$[\alpha]_D^{20}$ −16.7°(c 0.6，吡啶)。Liebermann-Burchard 反应阳

性。由电喷雾质谱 ESI-MS(m/z)1178[M－Na＋1]⁻ 和 m/z1224[M＋Na＋1]⁺推测化合物Ⅰ的相对分子质量为 1200，m/z 1824(3/2 M＋Na^+ ＋1)⁺证实了这一推测。IR(KBr)cm^{-1}：3419（强宽峰 OH)，1747 cm^{-1}(C═O)，1233，1039(SO_3Na)。

根据^{13}C-NMR 谱、^{1}H-NMR 及 HMQC 谱对化合物Ⅰ的碳、氢化学位移值进行归属，结果见表 20-6。

表 20-6 philinopside A 的^{1}H-NMR 和^{13}C-NMR 分析数据

carbon	δ_C[1)]	δ_H mutt[2)] (J in Hz)	^{1}H-^{1}H COSY correlation	NOESY correlation	HMBC
1	35.8	1.50(m)	H_2-2		
2	26.8	1.95(m)	H_2-1, H-3α	H_3-19	
3	88.1	3.24(dd)(4.2, 11.9)	H-2α, H-2β	H-5, H_3-31, H-1	C: 1xyl$_1$
4	39.8				
5	47.7	1.01(t)(7.6)	H_2-6	H-3α, H_3-31, H-7	C: 4, 30, 31
6	22.4	1.95(m)	H-5, H-7		
7	120.5	5.64(brs)	H_2-6	H-17, H_3-31, H_3-32, H-5	
8	145.6				
9	47.3	3.46(d)(14.2)	H-11α, H-11β	H_3-31	
10	35.7				
11	22.4	1.56(m)	H-9, H_2-12		
		1.79(m)	H-9, H_2-12		
12	30.2	2.15(m)	H-11α, H-11β		
13	59.5				
14	47.6				
15	43.5	1.75(m)	H-15α, H-16α		
		2.57(dd)(9.6, 12.1)	H-15β, H-16α		
16	73.9	5.91(dt)(9.6, 9.0)	H-15α, H-15β, H-17α	H-17α, H_3-32	C: 17, CH_3CO
17	53.8	2.62(d)(9.0)	H-16α	H-16α, H-7, H_3-32, H_3-21	C: 13, 21
18	179.6				
19	24.2	1.31(s)		H-2β, H_3-30	
20	85.2				
21	28.9	1.47(s)		H-17	
22	38.8	2.53(m)	H_2-23		
23	24.2	1.98(m)	H_2-22, H-24		
24	124.4	5.11(br, s)		H_2-23	C: 26, 27
25	132.1				
26	25.7	1.58(s)	H-24		
27	17.9	1.65(s)			
30	17.5	1.26(s)		H_3-19	C: 3, 5, 31
31	28.9	1.10(s)		H-3, H-5, H-7	C: 3, 5, 30
32	32.4	1.21(s)		H-16, H-17, H-7	C: 13, 14
CH_3CO	169.9				
CH_3CO	21.5	1.96(s)			

1) Recorded at 150MHz in pyridine-d_5-D_2O(4:1)。

2) Recorded at 600MHz in pyridine-d_5-D_2O(4:1)。

^{1}H-NMR 和^{13}C-NMR 高场区 7 个甲基信号显示该化合物为三萜皂苷类化合物。^{13}C-NMR 谱显示化合物含有两个双键和两个酯羰基(169.5, s;179.5, s)，其中 179.6 为内酯环的羰基碳信号。DEPT 谱 105 左右处有 4 个 CH 信号，在 HMQC 谱中对应的相关信号分别为(105.3, 4.8,d, J=7.0Hz)，(105.6, 5.14,d, J=7.6 Hz)，(105.3, 4.93,d, J=7.6 Hz)和(105.7, 5.4,d, J=7.9 Hz)，此组信号为糖端基的碳氢信号，表明该化合物的糖链由 4 个单糖组成。根据端基质子的偶合常数可以确定该化合物的 4 个单糖均为 β-构型。以 2 mol/L 三氟乙酸水解，然后糖腈乙酰化，所得产物进行气相色谱分析，经与标准糖的糖腈乙酰化物对照，确定化合物Ⅰ糖链的组成为木糖、奎诺糖、3-O-甲基葡萄糖，其比例 2:1:1。

根据上述 4 个端基质子信号，通过 TOCSY 和 DQF-COSY 对糖的信号进行归属(表 20-1)。发现与苷元相连的木糖的 4 位碳信号(75.3, 5.1ppm)其位移值偏低场，推测 4 位碳上的羟基连有磺酸基。IR(KBr)谱中 1039(vs)，1233(s)说明有磺酸基存在。从 ESI-MS 中 m/z 1121[M-SO_3Na＋Na＋H]⁺也说明有磺酸基存在。化合物Ⅰ脱硫衍生物(Ds-1)的质谱数据显示 DS-1 的相对分子质量为 1098，为化合物失去 SO_3Na 所致。比较两者的^{13}C-NMR，化合物Ⅰ的 C-4′的化学位移向低场移动 4.5ppm，而 C-3′的化学位移(76.4, 78.3)向高场移动 1.9ppm，C-5′的化学位移(64.5, 66.8)也向高场移动 2.3ppm，这些化学位移的变化确证 SO_3Na 处于与苷元相连的木糖的 4 位。

在 HMBC 谱中发现-OCH_3(3.83,s)与葡萄糖的 C-3(88.1)有很强的相关点,证明 3-*O*-甲基葡萄糖存在。同时观察到 5.46(1‴-H)与 87.2(C-2‴),4.93(1‴-H)与 86.1(C-4″),5.14(1″-H)与 83.8(C-2′),4.80(1′-H)与 89.3(C-3)有强的相关点,说明化合物 I 的糖链的连接次序为 3-*O*-甲基-β-D-葡萄糖-(1→3)-β-D-木糖-(1→4)-β-D-奎诺糖-(1→2)-4-*O*-磺酸钠-β-D-木糖-(1→3)-苷元。

糖链的连接次序由 ESI-MS 的碎片离子信号得到支持。其裂解示意图见图 20-10。

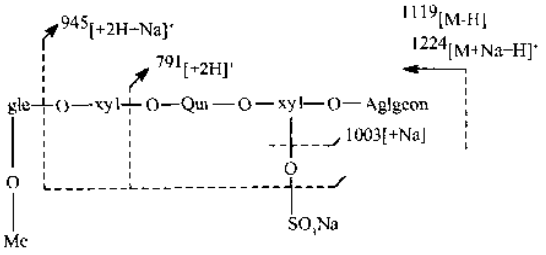


图 20-10　Sketch map of ESI^+ and ESI^- TOF-MS-MS of compound I

ESI-MS *m/z* 945[M-3-*O*-methyl-Glc+2H+Na]$^+$ 说明糖的末端为 3-*O*-methyl-Glc,*m/z* 791 [M-3-*O*-methyl-Glc-Xyl+2H]$^+$ 说明与葡萄糖相连的为木糖。

由 TOCSY 和 DQF-COSY 推断苷元的结构片断,再通过 HMBC 对这些片断进行连接得出苷元。TOCSY 相关点 5.74m/2.05m/1.1t 和^{13}C-NMR(δ ppm)120.5,145.6,说明为 7(8)双键。HMBC 谱上^{1}H-NMR(δ ppm)1.65(3H, s),1.58(3H, s)分别与^{13}C-NMR(δ ppm)124.4(d)和 132.1(s)有相关点,说明有异丙烯基存在,苷元的侧链上存在 24(25)双键。由 TOCSY 谱 24-H(δ ppm 5.1 br, s)的一组相关信号 5.11/1.98/2.53,推断应为侧链 23, 22 位的相关信号。TOCSY 一组相关信号 5.91m/2.7d1.86m/2.62d,为 15-H(1.75,m, 2.57,dd),16-H(5.91,m),17-H(2.62,d, *J*=9.0),NOESY 谱上 16-H 与 21-CH_3(1.26,s, 3H)有明显相关,因此确定 16 位的氢为 α-H,而乙酰基则处于 16 位的 β 位。HMBC 谱 12-H,15-H(2.67),17-H 与 179.6 相关,说明为 18 位羰基,结合 C-20(85.2),确定化合物 I 中有 18(20)内酯环。甲基的位移通过 HMQC 进行了归属。经过与有关文献对照,发现化合物 I 的苷元与 Liouvilloside A 的苷元一致。

综上所述,该化合物 I 为 16β-乙酰氧基-3-*O*-[3-*O*-β-D-甲基吡喃葡萄糖-(1→3)-β-D-吡喃木糖-(1→4)-β-D-吡喃奎诺糖-(1→2)-4-*O*-磺酸钠-β-D-吡喃木糖]-海参烷-7, 24-二烯-3β-醇,命名为 philinopside A,为一新化合物。

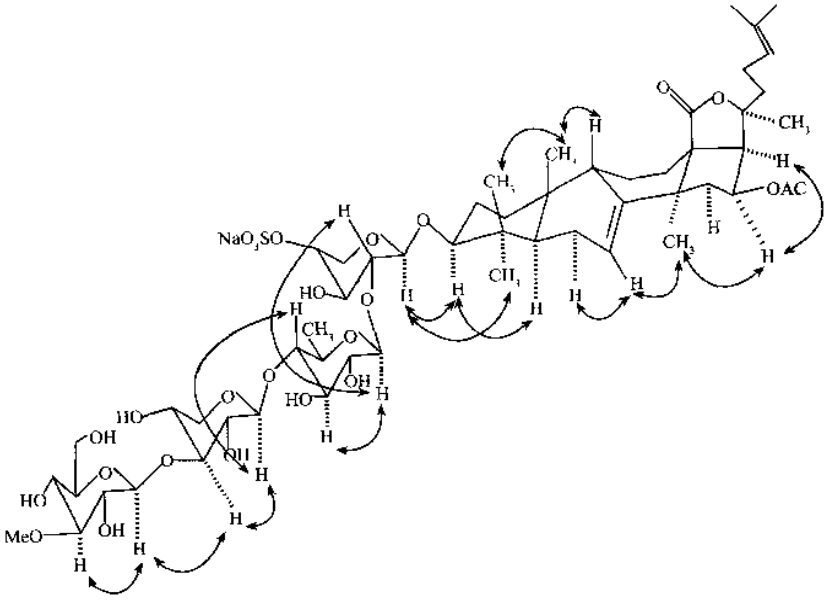


图 20-11　NOE connections of compound I

(3) 药理活性

1) 能明显抑制内皮细胞 HMEC-1 的增殖，其平均 IC_{50}为(1.60±0.48)μmol/L($n=2$)，作用效果呈明显量效关系。

2) 能明显抑制内皮细胞的管腔形成，其 IC_{50}为(0.058±0.018)μmol/L($n=2$)，作用效果呈明显量效关系。

3) 能明显抑制内皮细胞的迁移，其 IC_{50}为 0.046μmol/L，作用效果呈明显量效关系。

4) 对两个与血管生成密切相关的酪氨酸激酶受体 VEGFR-2，PDGFR-β 的酪氨酸激酶活性有明显的抑制作用，对 VEGFR-2 的 IC_{50}为(2.6±0.1)μmol/L($n-2$)；对 PDGFR 的 IC_{50}为(4.9±0.3)μmol/L($n=2$)。

5) 鸡胚尿囊膜(CAM)模型实验表明，化合物**1** 能够明显抑制鸡胚尿囊膜血管生成，其 IC_{50}为 11nmol/鸡胚。

6) 体内抗肿瘤试验表明化合物**1** 对小鼠 S-180 肉瘤抑制率 59.4%(4mg/kg，i.v，$P<0.01$)。

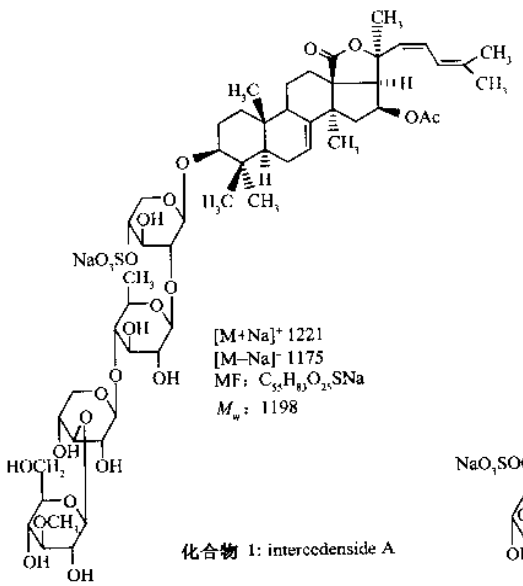
7) 对白色念珠菌 MIC_{80}为 16mg/L，对热带念株菌 MIC_{80}为 64mg/L，对近平滑念珠菌 MIC_{80}为 128 mg/L，对新生隐球菌 MIC_{80}为 64mg/L。

2. 二色桌片参抗肿瘤活性成分研究

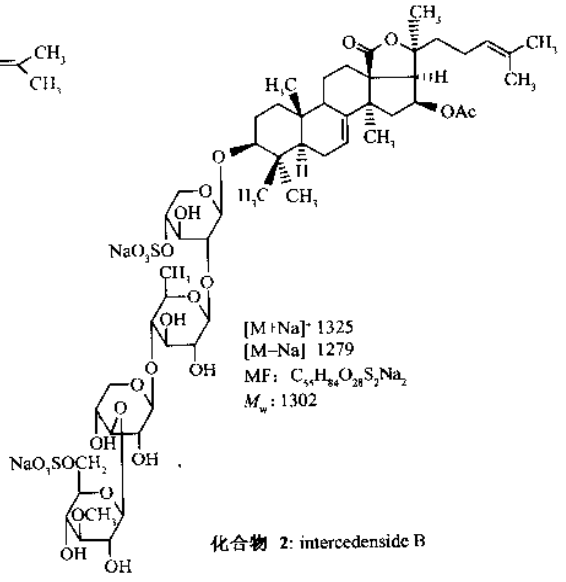
二色桌片参(*Mensamaria intercedens* Lampert)属枝手目(Dendrchirotida)瓜参科(Cucumariidae)。体长 30～120mm，直径 10～30mm。体呈纺锤形，两端略细，稍弯曲。活体颜色十分鲜艳，全体呈紫黑色，5 个步带的管足均为红色。乙醇浸泡后管足褪为白色。该物种在我国从福建东山到海南岛的海域均有分布。印度尼西亚和澳大利亚北部海域也有分布。在我国福建沿海以诏安湾海域为数最多，资源丰富，食用价值不大，当地渔民利用它作肥料，可以作为药物开发的有效资源。有研究机构对该种海参体内多糖和糖蛋白的分离纯化、化学特征和药理活性进行了研究，但有关该种海参体内皂苷成分的研究却未见报道。对其体内的有效成分开发利用，将产生较大的社会效益和经济效益，对于充分利用海洋生物资源均具有重大意义。

(1) 化合物的提取分离和纯化

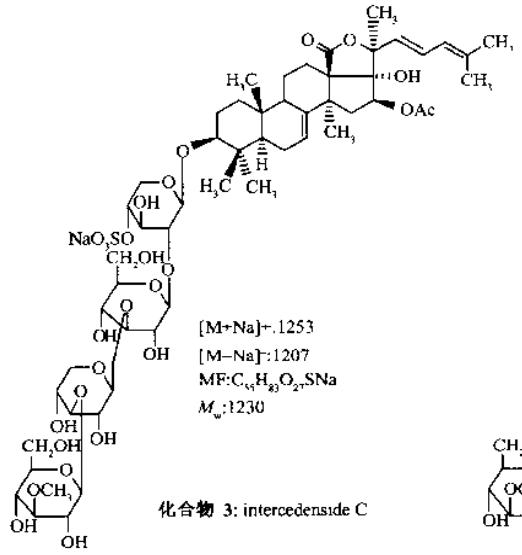
二色桌片参新鲜材料 100 kg 除去内脏和杂物后洗净切成小块。用 85%的乙醇室温浸泡提取 3 次，每次 7 d。第一次的提取液用大孔树脂处理，依次用水、50%、95%的乙醇洗脱。第二、三次的提取液合并处理，提取液回收溶剂，得到流浸膏。将流浸膏均匀分散水中，依次用二氯甲烷、水饱和正丁醇萃取，得到二氯甲烷部分、正丁醇部分和水部分，海参皂苷主要集中于正丁醇部分。将正丁醇部分的浸膏与大孔树脂处理得到的 50%洗脱部分的总皂苷合并处理，用多种层析分离方法(硅胶、反相硅胶和葡聚糖凝胶)进行分离和纯化，得到如下 8 种海参皂苷类成分。



化合物 1: intercedenside A

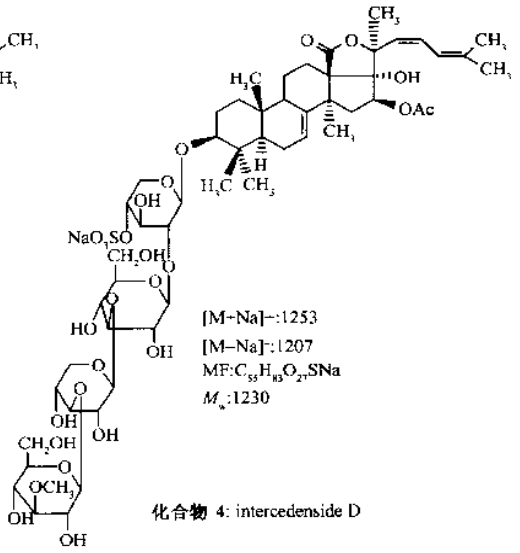


化合物 2: intercedenside B



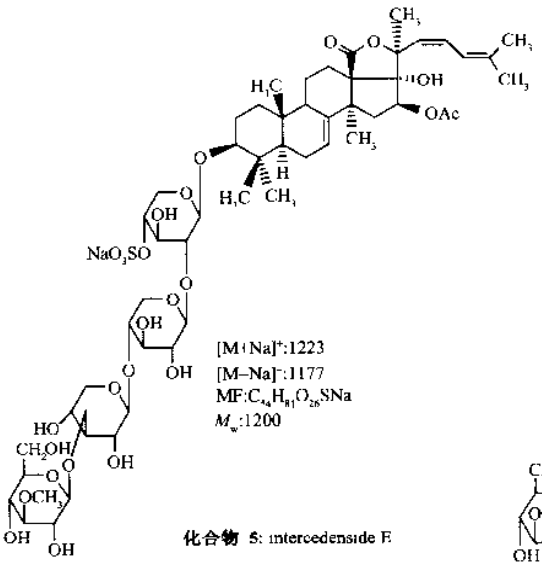
[M+Na]+:1253
[M−Na]⁻:1207
MF:$C_{55}H_{83}O_{27}SNa$
M_w:1230

化合物 3: intercedenside C



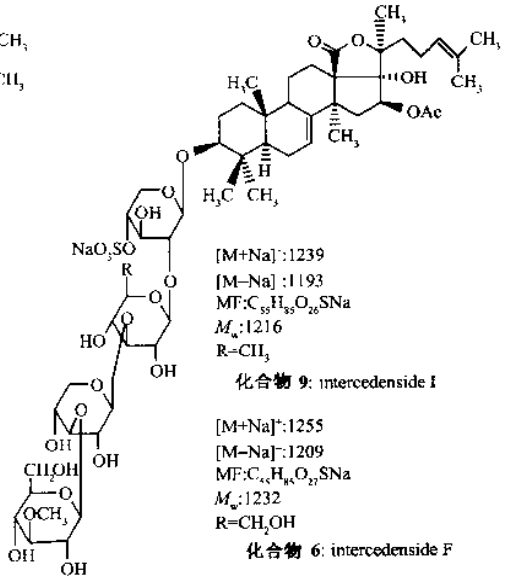
[M+Na]+:1253
[M−Na]⁻:1207
MF:$C_{55}H_{83}O_{27}SNa$
M_w:1230

化合物 4: intercedenside D



[M+Na]⁺:1223
[M−Na]⁻:1177
MF:$C_{54}H_{81}O_{26}SNa$
M_w:1200

化合物 5: intercedenside E

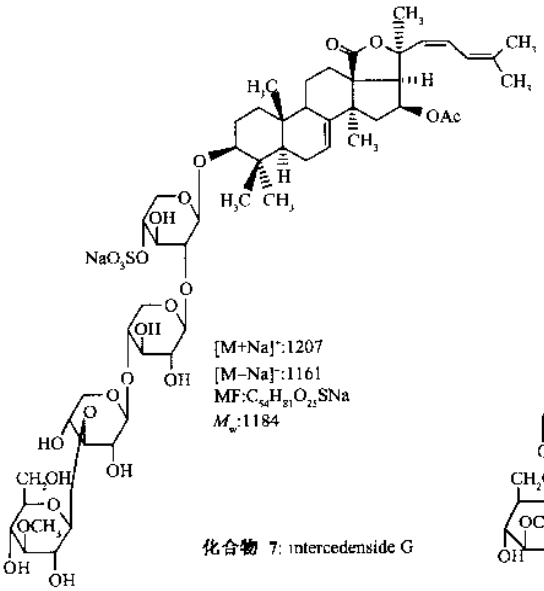


[M+Na]⁺:1239
[M−Na]⁻:1193
MF:$C_{55}H_{85}O_{26}SNa$
M_w:1216
R=CH_3

化合物 9: intercedenside I

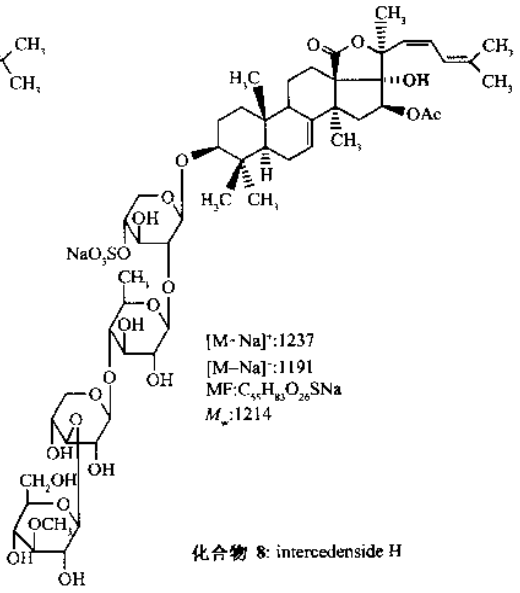
[M+Na]⁺:1255
[M−Na]⁻:1209
MF:$C_{55}H_{85}O_{27}SNa$
M_w:1232
R=CH_2OH

化合物 6: intercedenside F



[M+Na]⁺:1207
[M−Na]⁻:1161
MF:$C_{54}H_{81}O_{25}SNa$
M_w:1184

化合物 7: intercedenside G



[M+Na]⁺:1237
[M−Na]⁻:1191
MF:$C_{55}H_{83}O_{26}SNa$
M_w:1214

化合物 8: intercedenside H

(2) 化合物的结构测定

化合物**1**：$C_{55}H_{83}O_{25}SNa$，无色结晶性粉末，熔点 184～186℃，$[\alpha]_D^{20}$ −27.3（*c* 0.6，吡啶）。Liebermann-Burchard 反应阳性。由电喷雾-飞行时间-阳离子质谱 ESI-MS$^+$ 中的准分子离子峰 *m/z* 1221 $[M+Na]^+$ 和负离子质谱 ESI-MS$^-$ 中的准分子离子峰 1175 $[M-Na]^-$ 推测化合物**1** 的相对分子质量为 1198。HRESI-MS 中的准分子离子峰 *m/z* 1221.4702 $[M+Na]^+$（Calc. Mass 1221.4740）给出分子式 $C_{55}H_{83}O_{25}SNa_2$，结合 ^{13}C、^1H-NMR谱和 DEPT 谱确定该化合物的分子式为 $C_{55}H_{83}O_{25}SNa$。IR（KBr）cm^{-1}：3438（羟基），1743（羰基），1649（双键），1244，1070（硫酸酯基）。

根据化合物**1** 的 ^{13}C-NMR谱、^1H-NMR谱和 HMQC 谱，对化合物的各个碳及所连接氢的化学位移值进行归属，结果见表 20-2 和表 20-3。化合物**1** 的 ^1H-NMR和 ^{13}C-NMR谱高场区显示 9 个甲基信号，其中甲基质子 δ_H 1.69（3H，d，*J* = 6.2Hz，qui，H-6″）与糖环质子在 TOCSY 谱上形成一组相关峰，该甲基应为寡糖链上单糖甲基信号，另外 8 个甲基质子信号则是苷元上的甲基信号。在 ^1H-NMR的高场区有苷元质子信号，在 δ_H 3～5 区域有糖质子信号，相应的在 ^{13}C-NMR的高场区有苷元上的碳信号，在 δ_C 60～80 区域内有糖的碳信号，在 δ_C 105 左右有单糖端基碳的信号，表明化合物**1** 为三萜皂苷类化合物，化学结构与化合物 liouvilloside A 较为相似。

^{13}C-NMR 谱显示化合物含有三个双键（δ_C 120.6 C-7；145.9 C-8；132.2 C-22；120.5 C-23；121.3 C-24；137.0 C-25）和两个酯羰基（δ_C 169.8 OAc；179.3，C-18），δ_C 179.3 为内酯环上羰基碳的信号。TOCSY 谱显示，δ_H 5.64（1H，bs，H-7）；2.0（2H，m，H-6）；1.0（1H，m，H-5）构成一个偶合系统，说明为苷元上的双键为 7（8）位双键。在 TOCSY 谱上还可以看到 δ_H 5.64（1H，bs，H-7）与 3.44（1H，d，*J* = 13.8，H-9）发生烯丙偶合（allylic coupling）形成的相关峰和 δ_H 2.0（2H，m，H-6）与 3.44（1H，d，*J* = 13.8，H-9）发生高烯丙偶合（homoallylic coupling）形成的相关峰，进一步印证了 7（8）位双键的存在。TOCSY 谱显示，三个烯质子 δ_H 5.78（1H，d，*J* = 12，H-22）；6.11（1H，t，*J* = 12，H-23）；6.47（1H，d，*J* = 12，H-24）构成了一个共轭二烯体系，推测在苷元的侧链上有共轭双键（22Z，24-双烯）存在。H-22 与 H-23 之间的偶合常数（*J* = 12Hz）较小，表明 $\Delta^{22(23)}$ 双键为 *Z* 型。HMBC 谱（图 20-11）上 6.47/17.7（H-24/C-27），6.47/26.2（H-24/C-26）等碳-氢远程相关峰，说明苷元侧链上有异丙烯基存在，即 25 位碳上连有两个甲基：δ_C 26.2（C-26），17.7（C-27）；δ_H 1.72（3H，s，H-26），1.68（3H，s，H-27）。HMBC 谱上（图 20-12）5.78/84.0（H-22/C-20），6.11/84.0（H-23/C-20），5.78/121.3（H-22/C-24），6.11/137.0（H-23/C-25），6.47/17.7（H-24/C-27）和 6.47/26.2（H-24/C-26）等碳-氢远程相关峰也印证了苷元侧链上共轭双键（22*Z*，24-双烯）这一结构片断的存在，同时表明，苷元的侧链与其 C-20 位相连。NOESY 谱上（图 20-12），H-22 与 H-23，H-24 与 H-16 表现出很强的 NOE 相关，也是因为 $\Delta^{22(23)}$ 双键为 *Z* 型而引起的。HMBC 谱显示 2.02（1H，m，H-12），2.15（1H，m，H-12），2.46（1H，dd，*J* = 7.8，11.4，H-15α），3.11（1H，d，*J* = 7.8，H-17α）等三个质子均与 179.6（C-18）有碳-氢远程相关，说明羰基碳位于苷元 18 位，由于 C-20 有较大的低场位移［δ_C 84.0（C-20）］，说明 C-20 为连氧碳，化合物**1** 中存在 18（20）内酯环。TOCSY 谱上另一组信号 δ_H 1.75（1H，dd，*J* = 7.2，11.4，H-15），2.46（1H，dd，*J* = 7.8，11.4，H-15α），5.99（1H，ddd，*J* = 7.2，7.8，7.8，H-16α），3.11（1H，d，*J* = 7.8，H-17α）为 H_2-15，H-16，H-17 组成的一组相关信号。由于 16 位碳、氢均发生较大的低场位移（δ_C 72.8 C-16，δ_H 5.99 H-16），推测 16 位碳上连有含氧基团，而其 HMBC 谱上的碳-氢远程相关峰 1.96/169.8（H-CH_3COO/C-CH_3COO），说明化合物中含氧基团为乙酰氧基（CH_3COO—），5.99（1H，ddd，*J* = 7.2，7.8，7.8，H-16α）/169.8（CH_3COO）证明乙酰基团连在苷元 16 位碳上。在 NOESY 谱（图 20-12）上 2.46（1H，dd，*J* = 7.8，11.4，H-15α）与 5.99（1H，ddd，*J* = 7.2，7.8，7.8，H-16α）；3.11（1H，d，*J* = 7.8，H-17α）与 5.99（1H，ddd，*J* = 7.2，7.8，7.8，H-16）有明显的相关峰，存在 NOE 相关，说明 16 位的氢为 α-H，而乙酰基则处于 16 位的 β 位，H-16α 与 H-17α，H-15α，H-15β 之间的偶合常数较大，分别达到 7.8Hz，7.8Hz，7.2Hz，也支持这一结论。苷元环上的碳-氢归属完成以后，各甲基的归属借助 HMBC 谱得以完成，δ_H 1.10（3H，s，H-30，4β-CH_3），1.26（3H，s，H-31，4α-CH_3）分别与 δ_C 89.2（C-3），39.6（C-4），47.8（C-5）有碳-氢远程相关，使得 CH_3-30，CH_3-31 的化学位移得以确认。δ_H 1.21（3H，s，H-19，10β-CH_3）与 δ_C 36.2（C-

1),47.4 (C-9),35.6 (C-10) 的碳-氢远程相关,δ_H 1.70 (3H, s, H-21, 20α-CH_3)与 δ_C 84.0 (C-20), 57.6 (C-17) 的碳-氢远程相关,δ_H 1.09 (3H, s, H-32, 14α-CH_3)与 δ_C 48.2 (C-14), 43.8 (C-15)的碳-氢远程相关为归属它们的化学位移提供了依据。

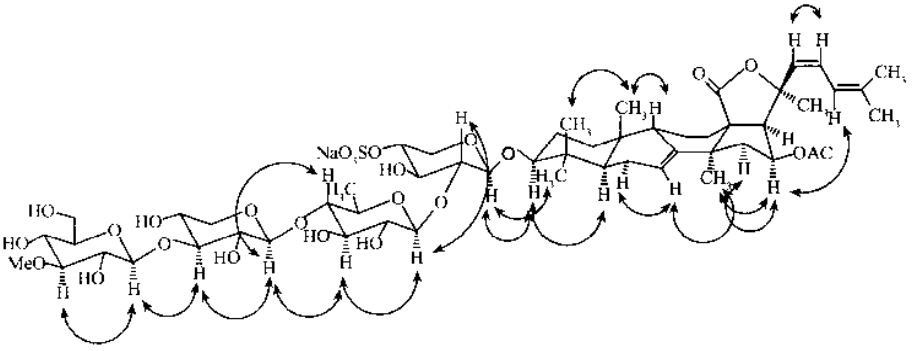


图 20-12　The Key HMBC Correlations of intercedenside A

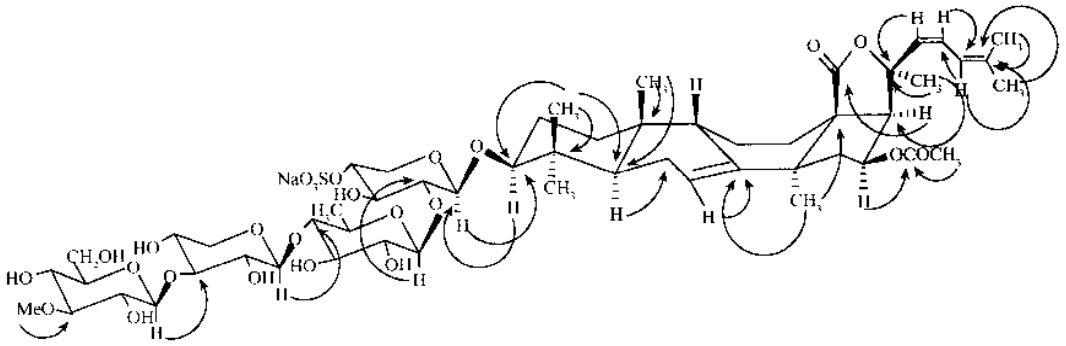


图 20-13　The Key NOESY Connections of intercedenside A

在化合物1 的 HMQC 谱中低场区有四个明显的相关峰,它们是皂苷糖链上四个单糖的端基碳和端基质子形成的,其对应的^{13}C-NMR和^{1}H-NMR信号分别为 δ_C 105.1 (xyl_1 C-1′),105.4 (qui C-1″),105.1 (xyl_2 C-1‴).105.5 (3-*O*Me-glc C-1⁗)和 δ_H 4.71 (1H, d, J = 7.2Hz, xyl_1 H-1′),5.04 (1H, d, J = 6.6Hz, qui H-1″),4.82 (1H, d, J = 7.8Hz, xyl_2 H-1‴),5.35 (1H, d, J = 7.2Hz, 3-OMe-glc H-1⁗)。此组信号表明该化合物的寡糖链由 4 个单糖组成。根据 4 个单糖的端基质子均具有较大的偶合常数 (6.6～7.8Hz)可以确定该化合物的 4 个单糖均为 β 构型。以 15% HCl 水解皂苷后得到组成皂苷糖链的单糖,将其制备成糖腈乙酸酯衍生物,进行气相色谱-质谱联用分析,经与标准糖的糖腈乙酸酯衍生物对照,确定化合物**1** 的糖链由木糖、奎诺糖、3-*O*-甲基葡萄糖组成,比例为 2∶1∶1。

将化合物**1** 的 NMR 数据与其脱硫衍生物 DS-intercedenside A 的数据(Table 8)进行比较发现,与苷元直接相连的木糖 4 位碳、氢信号 δ_C 75.8 (xyl_1 C-4′),δ_H 5.10 (1H, m, xyl_1 H-4′)发生较大的低场位移,推测 4 位碳上的羟基连有硫酸酯基。ESI-MS 中的碎片离子 m/z 1119 $[M\text{-}SO_3Na+Na+H]^+$ 也说明有硫酸酯基存在。比较两者的^{13}C-NMR,化合物**1** 中 C-4′(68.2,**75.8**)的化学位移向低场移动 7.6,而 C-3′(78.2,**75.4**)和 C-5′(66.5,**64.2**)分别向高场移动 2.8,2.3,这些化学位移值的变化证实硫酸酯基连接于与苷元相连的木糖的 4 位上。化合物**1** 脱硫衍生物(DS-intercedenside A,**1a**)的 ESI-MS 数据显示 DS-intercedenside A (**1a**)的相对分子质量为 1096,为化合物**1** 失去硫酸根(—SO_3Na)所致。

在 HMBC 谱中发现-OCH_3(3.84, 3H, s)与葡萄糖的 C-3⁗(87.9)有很强的碳-氢远程相关,这印证了寡糖链中有 3 *O*-甲基葡萄糖存在。在 HMBC 谱中还发现下列碳-氢远程相关:5.35(1H, d, 7.2, H-1⁗)/87.0 (C-3‴),4.82 (1H, d, 7.8, H-1‴)/86.0 (C-4″),5.04 (1H, d, 6.6, H-1″)/83.5 (C-2′),4.71 (1H, d, 7.2, H-1′)/89.2 (C-3)。这些相关说明化合物**1** 的糖链连接次序为 3-*O*-甲基-β-D-葡萄糖-(1→3)-β-D-木糖-(1→

4)-β-D-奎诺糖-(1→2)-4-O-硫酸钠-β-D-木糖-(1→3)-苷元。糖链的连接次序也得到 ESI-MS 的碎片离子信号支持。ESI-MS m/z 999 [M-3-OMe-glc-Na]$^-$说明寡糖链末端的单糖为 3-O-甲基葡萄糖，m/z 789[921-xyl]$^+$说明与葡萄糖相连的为木糖，化合物**1** 的 ESI-MS 裂解的碎片离子如图 20-14 所示。

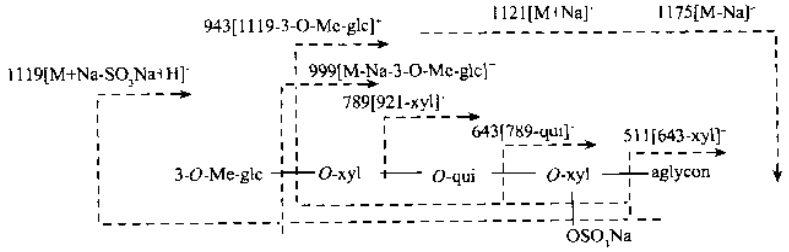


图 20-14 Fragmentation of intercedenside A in the ESI-MS (positive-ion and negative-ion mode)

综上所述，化合物**1** 为：16β-乙酰氧基-3-O-[3-O-甲基-β-D-吡喃葡萄糖-(1→3)-β-D-吡喃木糖-(1→4)-β-D-吡喃奎诺糖-(1→2)-4-O-硫酸钠-β-D-吡喃木糖]-海参烷-7, 22 Z, 24-三烯-3β-醇。

现有文献资料表明化合物**1** 尚未有公开报道，为一新化合物，命名为 intercedenside A。其^{13}C-NMR与^{1}H-NMR数据见表 20-7 和表 20-8。

表 20-7 Intercedenside A(1)苷元部分的氢谱和碳谱化学位移及 HMB(相关信号)

(in pyridine-d_5:D_2O, 4:1, 600/150 MHz)

position	δ_C	δ_H(J in Hz)	HMBC
1	36.2	1.43(2H, br)	
2	27.1	1.90(1H, m, β), 2.08(1H,m, α)	
3	89.2	3.24(1H, d, 9.6)	C: 1xyl$_1$
4	39.6		
5	47.8	1.0(1H,m)	C: 4,30,31
6	23.3	2.0(2H,m)	
7	120.6	5.64(1H, bs)	
8	145.9		
9	47.4	3.44(1H,d, 13.8)	
10	35.6		
11	22.6	1.47(1H,m), 1.76(1H,m)	
12	30.8	2.02(1H,m), 2.15(1H,m)	
13	58.5		
14	48.2		
15	43.8	1.75(1H,dd, β, 7.2,11.4), 2.46(1H,dd, α, 7.8,11.4)	
16	72.8	5.99(1H,ddd, 7.2,7.8,7.8)	C: 17, CH_3COO
17	57.6	3.11(1H,d, 7.8)	C: 13,21
18	179.3		
19	24.0	1.21(3H,s)	C: 9,10
20	84.0		
21	29.2	1.70(3H,s)	C: 17, 20,22
22	132.2	5.78(1H,d, 12)	C: 20,24
23	120.5	6.11(1H,t, 12)	C: 20, 25
24	121.3	6.47(1H,d, 12)	C: 26, 27
25	137.0		
26	26.2	1.72(3H,s)	C: 23,24,25,27
27	17.7	1.68(3H,s)	C: 23,24,25,26
30	17.8	1.10(3H,s)	C: 3, 4, 5,31
31	28.7	1.26(3H,s)	C: 3, 4, 5,30
32	32.7	1.09(3H,s)	C: 13, 14
CH_3COO	169.8		
CH_3COO	21.4	1.96(3H,s)	

表 20-8　Intercedenside A (1)糖部分的氢谱和碳谱化学位移及 HMBC 相关信号

(in pyridine-d_5:D_2O, 4:1, 600/150 MHz)

position	δ_C	δ_H(m, J in Hz)	HMBC
xyl_1(1 ⟶C-3)			
28	105.1	4.71(1H, d, 7.2)	C: C-3
29	83.5	3.99(1H, m)	C: 1qui
30	75.4	4.27(1H, m)	C: $2xyl_1$
31	75.8	5.10(1H,m)	
32	64.2	3.71(1H,m), 4.71(1H,d, 10.2)	
qui (1 ⟶$2xyl_1$)			
1	105.4	5.04(1H, d, 6.6)	C: $2xyl_1$
2	76.2	3.95(1H,m)	
3	75.1	4.22(1H, m)	
4	86.0	3.57(1H. dd, 8.4, 7.8)	C: $1xyl_2$
5	71.8	4.10(1H, m)	
6	17.9	1.69(3H, d, 6.2)	C: 4, 5qui
xyl_2(1 ⟶4qui)			
1	105.1	4.82(1H, d, 7.8)	C: 4qui
2	73.8	4.00(1H, m)	
3	87.0	4.19(1H, m)	C: 1 Meglu
4	68.9	4.13(1H, m)	
5	66.5	3.68(1H, m), 4.28(1H, m)	
Meglu (1 ⟶$3xyl_2$)			
1	105.5	5.35(1H, d, 7.2)	C: $3xyl_2$
2	74.9	3.99(1H, m)	C: 3 Meglu
3	87.9	3.66(1H, m)	C: 2,4 Meglu, OMe
4	70.5	4.08(1H, m)	C: OMe
5	78.0	3.97(1H, m)	C: 4 Meglu
6	61.9	4.24(1H,m), 4.45(1H,d, 10.2)	
OMe	60.8	3.84(3H,s)	C: 3 Meglu

化合物**1** 的酸水解：取 5 mg 化合物**1** 溶于 5 mL 15%的 HCl 中，密封于安瓿瓶内 110 ℃油浴加热回流 2 h，生成的苷元用氯仿萃取两次，每次用氯仿 5 mL。水层减压浓缩至干，加入 1 mL 吡啶使之溶解并将其转移至 25 mL 的圆底烧瓶中，再加入 2 mg $NH_2OH·HCl$，所得混合物于 100 ℃水浴加热回流 1 h。将反应物冷却至室温后加入乙酸酐 1.5 mL，继续加热回流 1 h，反应完毕以后，反应物减压回收至原体积 1/3 左右，取 0.2 μL 进行 GC-MS 分析。取 4 种标准单糖 D-xylose，β-D-glucose，6-deoxy-D-glucose，3-*O*-methyl-D-glucopyranose(SIGMA)各 5 mg，分别按照如下方法处理：加入 3 mL 吡啶使之溶解，再加入 4 mg $NH_2OH·HCl$，混合物于 100 ℃水浴加热回流 1 h。反应物冷却至室温后加入乙酸酐 3 mL，继续加热回流 1 h，反应完毕以后，反应物减压回收至原体积 1/3 左右，即可得到各标准单糖的糖腈乙酸酯衍生物。将组成化合物**1** 寡糖链的单糖的糖腈乙酸酯衍生物与各标准单糖的糖腈乙酸酯衍生物进行 GC-MS 对比分析，结果表明：化合物**1** 的寡糖链由三种单糖即木糖、奎诺糖、3-甲氧基葡萄糖，它们的比例为 2:1:1。

化合物**1** 的脱硫衍生化：化合物 30 mg，溶解于吡啶-二氧六环(1:1)的混合液中，加热回流 4 h，反应物减压浓缩回收溶剂，分散水中，用正丁醇萃取。正丁醇部分回收溶剂以后，用高效液相柱层析纯化 (Zobax 300 SB-C18 柱，80%的甲醇洗脱)，得到化合物**1** 的脱硫衍生物**1a** (DS-intercedenside A，16mg)。

(3) 化合物的药理活性研究

1) 体外细胞毒活性研究

经过高效液相柱层析制备以后得到的皂苷单体化合物 intercedenside A，对多种癌细胞株的细胞毒活性进一步加强，ED_{50}均小于 5 μg/mL(表 20-9)。

表 20-9 Effects of Int. A on HTCL Replication H-79 (ED_{50},μg/mL)

sample	A549	MCF-7	IA9	CAKI-1	U-87-MG	PC-3	KB	KB-VIN	SK-MEL-2	HCT-8
Int. A	1.7	3.5	0.96	1.2	4.0	3.2	3.5	3.5	3.6	2.4

2) intercedenside A 对小鼠 S-180 肉瘤和 Lewis 肺癌的体内抗肿瘤活性研究

实验显示，化合物 intercedenside A 对小鼠 S-180 肉瘤及 Lewis 肺癌在高剂量 120 mg/kg 时显示高于 40%以上的抗肿瘤活性。供试样品对小鼠 S-180 肉瘤的敏感性高于 Lewis 肺癌(表 20-10 和表 20-11)。

表 20-10 intercedenside A 对小鼠 S180 肉瘤(皮下接种)的抑制作用

样品	剂量/(mg/kg)	给药方案	动物数始/终	动物体重始/终	瘤重 $X \pm SD$	抑瘤率/%
Int. A	120	ig×10qd	10/10	20.3/23.1	$1.25 \pm 0.16^{***}$	57.48
Int. A	60	ig×10qd	10/10	20.4/24.9	$1.78 \pm 0.19^{***}$	39.46
Int. A	30	ig×10qd	10/10	20.4/24.7	$2.03 \pm 0.20^{***}$	30.95
CTX	30	ig×7qd	10/10	20.5/22.5	$0.42 \pm 0.15^{***}$	85.71
阴性对照	相应溶剂	ig×10qd	10/10	20.3/25.5	2.94 ± 0.29	

注：与阴性对照组相比 *** P 值<0.01。

表 20-11 intercedenside A 对小鼠 Lewis 肺癌(皮下接种)的抑制作用

样品	剂量/(mg/kg)	给药方案	动物数始/终	动物体重始/终	瘤重 $X \pm SD$	抑瘤率/%
Int. A	120	ig×10qd	10/9	19.1/23.1	$1.28 \pm 0.22^{***}$	48.39
Int. A	60	ig×10qd	10/10	19.3/24.9	$1.60 \pm 0.19^{***}$	35.48
Int. A	30	ig×10qd	10/10	19.2/25.9	$1.74 \pm 0.14^{**}$	29.84
CTX	30	ig×7qd	10/10	19.0/20.4	$0.36 \pm 0.10^{***}$	85.48
阴性对照	相应溶剂	ig×10qd	10/10	19.3/26.5	2.94 ± 0.29	

注：与阴性对照组相比 ** P 值<0.05，*** P 值<0.01。

参 考 文 献

[1] Kerr R G et al. Exp Opin Patents. 1999,9:1207
[2] Shu Y Z. J Nat Prod,1998,61:1053
[3] Jaspers M. Chem Ind,1999,51
[4] Wallace R W. Mol Med Today,1997,3:291
[5] Rinehart K L. Med Rev,2000,20:1
[6] Sakai R et al. J Med Chem,1996,39:2819
[7] Zewail-Foote M et al. J Med Chem,1999,42:2493
[8] Roussis V et al. Phytochemistry,1993,34(1):107
[9] Shen Y C et al. Phytochemistry,1993,32(1):71
[10] Parameswaran P S et al. Indian J Chem,1994,33B(10):1006
[11] Rochfort S J et al. J Nat Prod,1994,57(6):849
[12] Kurata K et al. Phytochemistry,1996,41(3):749
[13] Norte M et al. Tetrahedron Lett,1993,34(21):3485
[14] Venkateswarlu Y et al. Phytochemistry,1995,40(1):331
[15] Derosa S et al. Phytochemistry,1999,51:1009
[16] Yamase M et al. Chem Pharm Bull,1999,47(6):813
[17] Ninomiya M et al. J Org Chem,1999,64(15):5436
[18] Bouatcha N et al. J Nat Prod,1993,56(10):1747
[19] Guella G et al. J Chem Soc Perkin Trans 1,1993:1545
[20] Patil A D et al. Phytochemistry,1993,33(5):1061

[21] Hardt I H et al. Phytochemistry, 1996, 43(1): 71
[22] Culioli G et al Biochem Syst Ecol, 2000, 28(2): 185
[23] Norte M et al. Tetrahedron Lett, 1993, 34(21): 3485
[24] Bian B H et al. Aust J Chem, 1998, 51(12): 1157
[25] Tsuchiya N et al. Phytochemistry, 1998, 48(6): 1003
[26] Talbot H M et al. Org Geochem, 1999, 30(9): 1163
[27] Sheu J H et al. J Nat Prod, 1997, 60(9): 900
[28] 徐石海等. 药学学报, 2000, 35(1): 26
[29] Rochfort S J et al. Aust J Chem, 1996, 49: 715
[30] Aoki S et al. Tetrahedron Lett, 1998, 39: 6303
[31] Kohayashi M et al. Chem Pharm Bull, 1996, 44(10): 1840
[32] Leone P A et al. J Nat Prod, 2000, 63(5): 694
[33] Qureshi A et al. Terrahedron, 1999, 55: 8323
[34] Dauria M V et al. J Org Chem, 1998, 63(21): 7382
[35] Morris L A et al. J Nat Prod, 1998, 61(4): 538
[36] Roccatagliata A J et al. J Nat Prod, 1998, 61(3): 370
[37] Roccataglata A J et al. J Nat Prod, 1996, 59(9): 887
[38] Marino S D et al. Tetrahedron, 1997, 53(25): 8625
[39] Marino S D et al. J Nat Prod, 1998, 61(11): 1319
[40] Ishida H et al. Chem Pharm Bull, 1998, 46(1): 12
[41] Rao M N et al. J Nat Prod, 2000, 63(5): 631
[42] Pettit G R et al. J Am Chem Soc, 1982, 104: 6846
[43] Pettit G R. J Nat Prod, 1996, 59: 812
[44] Wendt D E. Biol Bull, 1996, 191: 224
[45] Pires A et al. Biol Bull, 1997, 192: 399
[46] Pain S. New Scientist, 1996, 14: 38
[47] Watters D J et al. Biochem Pharmacol, 1999, 58: 383
[48] Goekjian P G et al. Curr Med Chem, 1999, 6: 877
[49] Ono Y et al. Proc Natt Acad Sci, 1989, 86: 4868
[50] Wender P A et al. Proc Natl Acad Sci, 1986, 83: 4213
[51] Wender P A et al. Natl Acad Sci. 1988, 85: 7197
[52] Lee J et al. J Med Chem, 1999: 4129
[53] Wang S et al. J Med Chem, 1996, 39: 2541
[54] Zhang G et al. J H Cell, 1995, 81: 917
[55] Slater S J et al. J Biol Chem, 1996, 271: 4627
[56] Kraft A S et al. Cancer Chemother Pharmacol, 1996, 37: 271
[57] Young S et al. Biochem J, 1987, 244: 775
[58] Lee H W et al. J Biol Chem, 1996, 271: 20973
[59] Lee H W et al J B Mol Pharma, 1997, 51: 439
[60] Keenan C et al. Letters, 1997, 415: 101
[61] Lorenzo P S et al. J Biol Chem, 1997, 272: 33338
[62] Jung Sun Kim et al. J Nat Prod, 1999, 62: 554
[63] Yongwan Seo et al. J Nat Prod, 1999, 62: 122
[64] Xiong Fu et al. J Nat Prod, 1999, 62: 1336
[65] Kerr R G et al. J Org Chem, 1991, 56: 58
[66] Itoh T et al. J Chem Soc Perkin Tran I, 1983: 147
[67] Shunji ao Ki et al. Tetrahedron, 1999, 55: 13965
[68] Clelia Giannini et al. Tetrahedron, 1999, 55: 13749
[69] Geonseek Ryu et al. Tetrahedron, 1999, 55: 13171
[70] Ian A Van Altena et al. J Nat Prod, 1999, 62: 1154
[71] Ngoc B Pham et al. J Nat Prod, 1996, 62: 1439
[72] Asfia Qureshi et al. Tetrahedon, 1999, 55: 8323
[73] Yutaka sera et al. J Nat Prod, 1999, 62: 152

[74] Amiram Groweiss et al. J Nat Prod, 1999, 62: 1691
[75] Quinoa E et al. J Org Chem, 1986, 51: 4494
[76] Rogelio Fernandez et al. J Nat Prod, 1999, (62): 678
[77] Shigeki Matsunaga et al. J Nat Prod, 1999, 62: 1202
[78] Sarath P Gunasekera et al. J Nat Prod, 1999, 62: 1208
[79] Sarath P Gunasekera et al. J Nat Prod, 1999, 62: 173
[80] Glaudia Eder et al. J Nat Prod, 1999, 62: 184
[81] Marie-Genevieve DiJoux et al. J Nat Prod, 1999, 62: 636
[82] Atsushi Kitamura et al. Terrahedron, 1999, 55: 2487
[83] Dietmar Wolf et al. J Nat Prod, 1999, 62: 170
[84] Sylvia Urban et al. J Org Chem, 1999, 64: 731
[85] Ramesh P et al. J Nat Prod, 1999, 62: 780
[86] Claudia Eder et al. J Nat Prod, 1999, 62: 1295
[87] Hiroshi Uemoto et al. J Nat Prod, 1999, 62: 1581
[88] Masashi Tsuda et al. Tetrahedron Letters, 1999, 40: 5709
[89] Patrizia Ciminiello et al. J Nat Prod, 1999, 62: 590
[90] Xiong Fu et al. J Nat Prod, 1999, 62: 1072
[91] Venkateswarlu Y et al. J Nat Prod, 1999, 62: 893
[92] Sachiko Tsukamoto et al. J Org Chem, 1999, 64: 3794
[93] John A et al. J Nat Prod, 1999, 62: 1682
[94] Christine L et al. J Org Chem, 1999, 64: 5565
[95] John A Kalaitzis et al. J Org Chem, 1999, 64: 5571
[96] Loya S et al. J Nat Prod, 1993, 56: 2120
[97] Amira Rudi et al. Tetrahedron, 1999, 55: 5545
[98] Darid E et al J Nat Prod, 1999, 62: 653
[99] De Rosa S et al. J Nat Prod, 1995, 58: 1776
[100] Salvatore Re Rosa et al J Nat Drod, 1999, 62: 1316
[101] Xiong Fu et al. J Nat Prod, 1999, 62: 1190
[102] Kernan M R et al. J Org Chem, 1988, 53: 4574
[103] Xiong Fu et al. J Nat Prod, 1999, 62: 644
[104] Thorsten Jahn et al. J Nat Prod, 1999, 62: 375
[105] Salvatore De Rosa et al. Tetrahedron, 1999, 55: 13850
[106] Marie Lise et al. J Nat Pro, 1999, 62: 1304
[107] Li C J et al. J Nat Prod, 1999, 62: 287
[108] Scotts Mitchell et al. Tetrahedron, 1999, 55: 10887
[109] Simon P B et al. J Nat Prod, 1999, 62: 214
[110] Yutaka Sera et al. J Nat Prod, 1999, 62: 395
[111] Chin-Yeu Chen et al. J Nat Prod, 1999, 62: 573
[112] Marie Lise et al Tetrahedron Letters, 1999, 40: 3144
[113] Li C J et al. J Nat Prod, 1999, 62: 1330
[114] Faulkner D. J Nat Prod Rep, 1998, 15: 113
[115] Paul W F et al. J Am Chem Soc, 1999, 121: 5899
[116] Masashi Tsuda et al. Tetrahedron, 1999, 55: 10305
[117] Masashi Tsuda et al. Tetrahrdeon, 1999, 55: 12543
[118] Michael C R et al. Tetrahedron Letters, 1999, 40: 5373
[119] Nobuhiro Fusetani et al Tetahedron Letlers, 1999, 40: 4687
[120] Angela Zampella Clelia Giamini Cecile Debitus. J Nat Prod, 1999, 62: 332
[121] John E et al. J Nat Prod, 1999, 62: 1137
[122] Zhang X et al Cancer Researeh, 1997, 57: 3751
[123] Sabina Carbonelli et al. Tetrahedron, 1999, 55: 14665
[124] Nboru Takaua et al. Tetrahedron letters, 1999, 40: 6309
[125] Simon P B et al. J Org Chem, 64: 1140
[126] Sachiko Tsukamoto et al. Tetrahedron, 1999, 55: 13697

[127] Shunji Aoki et al. Tetrahedron, 1999, 55: 14865
[128] Noriko U et al. J Nat Prod, 1999, 62: 969
[129] Dong-Kyoo Kim et al. J Nat Prod, 1999, 62: 773
[130] Gillian M et al. J Nat Prod, 1999, 62: 1678
[131] Boo Ahn Shin et al. J Nat Prod, 1999, 62: 1554
[132] Isao Kitagawa et al. Chem Pharm Bull, 1989, 37(1): 61
[133] Sergey A Avilov et al. J Nat Prod, 2000, 63: 1349
[134] Santhakumari G et al. Cytologia, 1988, 53: 163
[135] Marta S Maier et al. J Nat Prod, 2001, 64: 732
[136] Kalinin V I et al. Toxicon, 1996, 34(4): 475

（易杨华）

第二十一章　天然产物的结构修饰

大约60%的世界人口依赖草药和天然药物来治疗疾病，天然产物长期以来被认为是有效治疗药物的重要来源。从1983～1994年间生产上市的520种新药中，39%是天然产物或者衍生自天然产物（其中天然产物约占20%，而天然产物的衍生物约占80%），尤其60%～80%的抗菌和抗癌药来自天然产物。1999年统计的20个非蛋白的畅销药中有9个是来自天然产物或从其衍生出来，如天然产物中新开发出的新药抗疟药青蒿素（artemisinin）和其衍生物蒿甲醚（artemether）、抗癌药紫杉醇（taxol）及其类似物紫杉醚（taxotere）、长春碱（vinblastine）和长春新碱（vincristine）及它们的结构修饰物长春地辛（vindesine）、治疗早老性痴呆药石杉碱甲（huperzine A）及其衍生物希普林（schiperine）等。

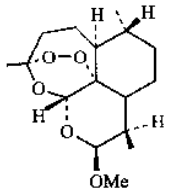
世界各国和地区投入大量的人力和财力，积极开展对天然药物的研究，从天然产物中寻找新药或先导化合物的研究是当前国内外创制新药的重要研究方向和非常活跃的研究领域。除了从天然产物直接研究开发成有效的治疗新药物外，天然产物还是新药开发所依赖的新先导化合物取之不尽的源泉。与天然产物相关的新的化学成分要远远多于其他来源的化合物，已发表的、来自天然产物的40%化学结构在合成化学成分中是没有的。世界上大约有250 000种植物，其中仅10%已被进行过生物测试。除了这些植物外，还有更多的生物如海洋生物和微生物尚有待于进一步研究。

针对新发现的靶位（target）来寻找结构新型的天然药物，天然产物提供的多种多样的化合物为进一步开发候选药物提供了丰富多样的结构类型。以天然产物为先导化合物，结合结构与生物活性关系和代谢研究进一步进行结构修饰和类似物合成，以提高药效和降低毒性，往往从一个有效的天然先导化合物可以衍生出一系列新药。这一过程已经成为新药创制的重要途径，而且已经取得了丰硕的成果。在当代竞争激烈的药物研究中，天然产物提供的分子多样性和生物活性具其独特的性质，是创制新药不可替代的源泉。

本章通过介绍部分天然产物进行结构修饰研究并成功开发成新药的例子，来了解天然产物结构修饰的思路、途径和方法，也附带介绍一些这方面研究的热点及进一步研究的趋向。

第一节　抗疟药——青蒿素

蒿甲醚（artemether，**1**）是我国首创的，为数极少的进入国际药品主流市场的抗疟新药。



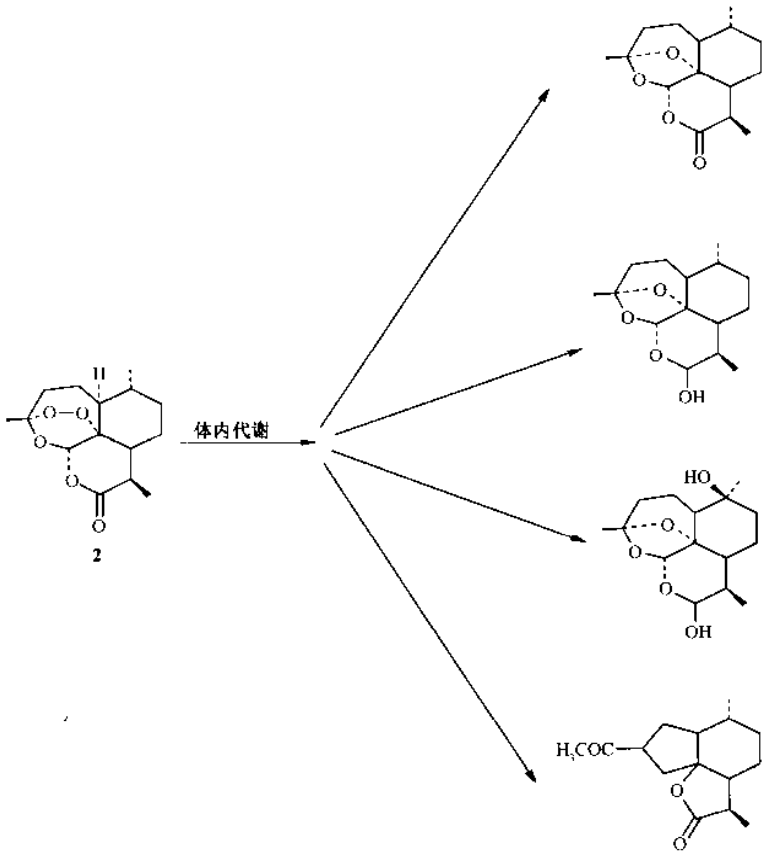
1

目前，疟疾仍是世界上最严重的传染病之一，据世界卫生组织统计每年有1.6亿的临床病例，几百万人死亡，主要原因是20世纪60年代末起恶性疟疾对氯喹等抗疟药产生抗药性，世界卫生组织疟疾治疗委员会和国际化学科学开发组合作，投入大量人力和物力进行新抗疟药研究，虽发现了一些苗头，如甲氟喹，治愈率95%，但易产生抗药性；三嗪类抗疟药发现代谢中含有毒的肟类化合物。

20世纪70年代，我国科技工作者发现了与以往抗疟药结构完全不同的倍半萜内酯——青蒿素（artemisinin，**2**）[1]。青蒿素是从中药黄花蒿（*Artemisia annua* L.）中分离得到的新型带过氧基团的倍半萜内酯化合物，打破了以前抗疟药均是含氮环化合物的框架，在疟疾化疗史上是继氯喹之后又一重大突破。经大量的化学药理，毒性和临床试验证明青蒿素对氯喹敏感株和抗性株的恶性疟和间日疟均有很好的效果，开辟了抗疟药的新领域。虽然青蒿素是高效、低毒、速效的抗疟新药，但尚存在两大不足，它在水和油中几乎不

溶解，口服又吸收不好，因此难于制成合适的制剂。另外，口服复燃率高（28 天复燃率为 45.8%），为克服此不足，因此进行了体内代谢转化过程和结构修饰研究。

对青蒿素进行人体内代谢转化研究，发现疟疾病人口服青蒿素后体内代谢转化研究结果证明大部分以原型药排出，提示其口服吸收不好，从尿中分离得到的代谢物均无抗疟活性，说明是失活化代谢，经研究发现代谢物均失去过氧基团，代谢过程及产物见图 21-1[2, 3]。



2

图 21-1　青蒿素体内代谢转化

青蒿素接触氢化后失去过氧键也无抗疟活性。当青蒿素在甲醇中用钠硼氢或钾硼氢还原得二氢青蒿素（dihydroartemisinin，**3**），保留了过氧基团，它的抗疟效果比青蒿素强，从体内代谢和上述一系列试验证明过氧基团是抗疟活性基团，所以稳定过氧键，可望提高疗效。

二氢青蒿素分子中羟基为合成各种衍生物提供了基点，以此为起始原料，半合成了一系列青蒿素衍生物（图 21-2），主要包括 3 种类型：醚类（**4**）、酯类（**5**）和碳酸酯类（**6**）的 300 多个衍生物，其中 20 多个衍生物的抗疟效果比青蒿素强 5～10 倍。经化学、药效、毒理、药代、临床试验后综合比较，蒿甲醚和蒿酯钠（artesunate，**7**）发展成抗疟新药，前者油溶性极好，易制成油针剂，28 天复燃率为 6.7%，后者水溶性好，可制成粉针剂，28 天的复燃率为 50%，但当提高剂量延长疗程，其复燃率降为 10%以下。

其合成路线较简单，二氢青蒿素在酸性条件催化与醇类生成醚类衍生物，也可以 BF_3/Et_2O 作催化剂在醇溶液中生成醚类化合物，还常产生一对差向异构体，其中以 β 体为主，二者均有抗疟作用；还原青蒿素在吡啶催化下与乙酸酐或酰氯作用即生成酯类衍生物，二氢青蒿素在吡啶催化下与氯甲酸酯反应即得碳酸酯类衍生物。

蒿甲醚抗鼠疟试验：SD_{90}为 1 mg/kg，最低疟原虫转阴总量为 5.4 mg/kg；青蒿素的 SD_{90}为 6.2 mg/kg，最低疟原虫转阴总量为 75 mg/kg。抗猴疟试验：蒿甲醚油剂转阴总量为 3 mg/kg，无复燃总量为 12 mg/kg；青蒿素油剂（含有超过药典允许的助溶剂）转阴总量为 30 mg/kg，无复燃总量为 60 mg/kg。进一步进行毒

理学等临床前药理研究(包括急性毒性,长期毒性,局部用药毒性动物体内吸收分布排泄、药代动力学)和三致试验,证明蒿甲醚无明显毒副作用和无致突变、致癌、致畸作用。临床验证共 1088 例疟疾病人,其中恶性 829 例,间日疟 259 例,在恶性疟中有凶险型脑型病 44 例,疗效 100%。在泰国、柬埔寨、巴西的疟区及多戈、坦桑尼亚等非洲疟疾高发区感染了非洲疟区虫株的我国援外员应用蒿甲醚疗效也令人满意。临床上使用蒿甲醚病人,治疗后测定肝、肾功能和心电图均未发现明显毒副反应,孕妇应用后对其本人及后代也无影响。证明蒿甲醚是高效(剂量小),速效(控制症状快、退热时间快、血中疟原虫消失时间快),低毒(未现明显毒副反应),复发率低的抗疟新药[1~3]。

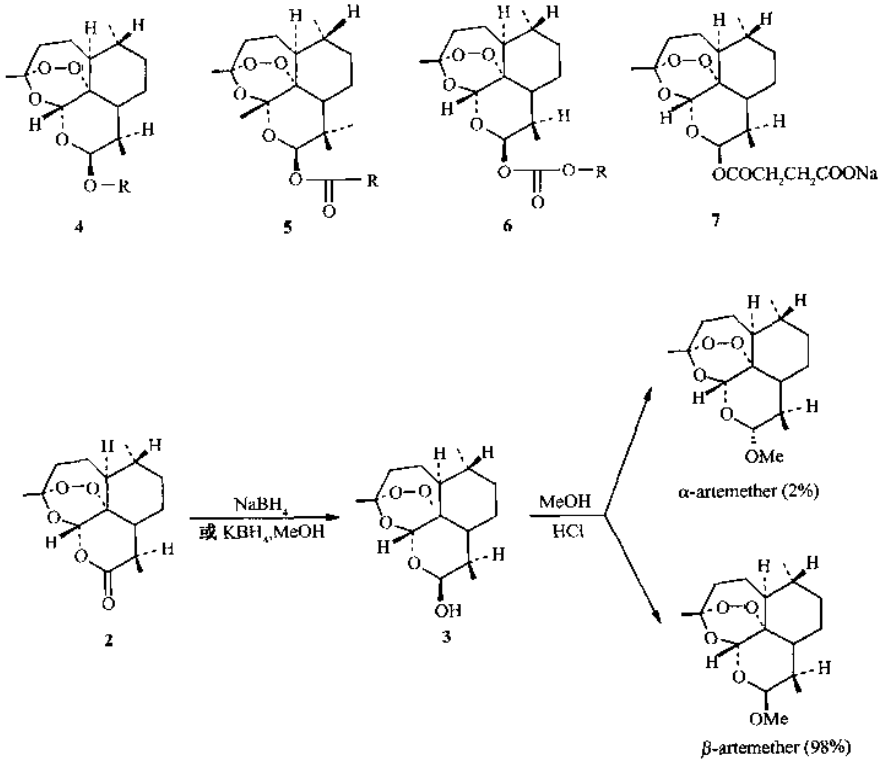


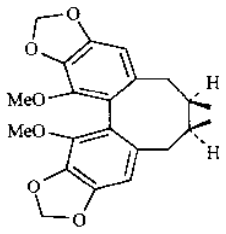
图 21 2 青蒿素衍生物主要类型

在伊斯坦布尔第十五届国际化疗会议上,6000 名各国医坛专家盛誉蒿甲醚功效神奇,是世界医药史上的创举,是对人类的重大贡献。世界卫生组织(WHO)提供经费,在亚非拉国家对蒿甲醚进行验证并推广,认定蒿甲醚是目前世界上最好的抗疟药。1990 年世界卫生组织出版的文件向世界各疟区国家推广应用抗疟新药蒿甲醚。该药已获准在缅甸、泰国、巴西、扎伊尔、马达加斯加、多戈、加蓬、加纳、科特迪瓦等 10 多个国家注册销售。

第二节 抗肝炎药——联苯双酯

五味子[*Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill.]是一种常用的中药。临床上用于治疗肝炎,药理实验表明具降血清转氨酶作用。从其乙醇提取液中得到多个有药理活性的木脂素类化合物,其中五味子丙素(schizandrin C,**8**)[4]对小鼠四氯化碳引起的肝损伤有明显的保护作用[5],因此对五味子丙素进行类似物合成。

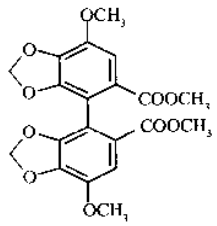
在其合成过程中的,中间体联苯双酯(bifendate)有明显的抗肝毒作用。经药理试验,α-联苯双酯对多种化学性肝损伤动物模型有保护作用,增强肝脏对毒物的解毒作用。临床应用对病毒性肝炎病人有显著的降低血清谷丙转氨酶作用,并改善主要症状[6]。



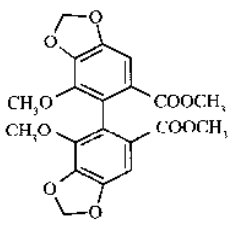
8

联苯双酯不仅能降低四氯化碳引起的小鼠血清谷丙转氨酶(SGPT)水平升高，对肝脏病理损害也有明显的保护作用。此外，还发现联苯双酯能使正常小鼠、四氯化碳肝损伤小鼠及强的松处理的小鼠肝组织中GPT降低，但对谷草转氨酶(GOT)及醛缩酶活性无明显影响。在使正常小鼠肝脏组织中GPT活性明显降低时，心脏GPT活性无明显变化。联苯双酯对四氯化碳引起的小鼠SGPT升高的降低作用似非直接抑制血清及肝组织中的GPT活性，或促进血液中GPT的消失。在联苯双酯保肝解毒研究过程中，发现对肝癌的标记物甲胎蛋白(AFP)也有作用，因此进一步对其基本骨架酯基团部分进行修饰，发现一些不对称的联苯化合物对肿瘤细胞有强的抑制作用[7]。

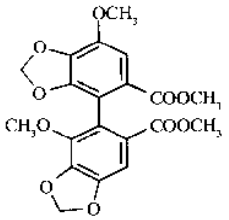
其合成路线由没食子酸制得间位单甲醚甲酯，在丙酮中与二碘甲烷回流得到3,4-次二甲氧基-5-甲基氧基苯甲酸甲酯，在冰醋酸中溴化后得到2-溴化物，再在DMF中进行Ullmam反应得 α-联苯双酯(**9**)，反应物中尚有 β-联苯双酯(**10**)和 γ-联苯双酯(**11**)。



9

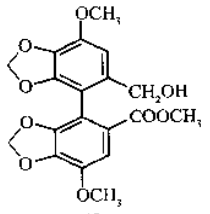


10



11

最近，将2-甲氧羰基改为羟甲基，即4,4′-二甲氧基-5,6,5′,6′-双(亚甲二氧基-2-羟甲基-2′-甲氧羰基联苯，通用名为双环醇(**12**)，双环醇对四氯化碳、D-氨基半乳糖胺、扑热息痛引起的小鼠急性肝损伤及小鼠免疫性肝炎等4种动物模型均有显著降低血清转氨酶水平的作用，肝脏组织病理形态学损害有不同程度减轻。此外，对大鼠慢性四氯化碳肝损伤模型除有降低血清转氨酶作用外，兼有改善血清白蛋白/球蛋白值及肝脏脯氨酸含量的效果，即有减轻肝纤维化的作用。双环醇对慢性乙肝病人服药六个月血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)复常率为53.5%了，停药3个月70%以上ALT恢复正常的病人ALT保持稳定；血清门冬氨酸转移酶(AST)复常率为48.7%，停药3个月全部AST恢复正常的病人AST保持稳定。对慢性丙肝病人的ALT复常率为64.1%，其中70%的病人ALT保持稳定；双环醇可以使HBeAg和HBV-DNA持续转阴。目前已以商品名为百赛诺批准上市。



12

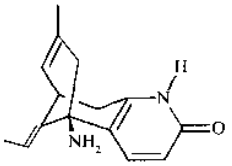
第三节 抗老年痴呆症药——石杉碱甲

老年痴呆症(阿尔茨海默病,Alzheimer's disease,AD)是发生于老年人口中的一类智能缺损症,临床上主要表现为进行性认知功能减退,并伴有行为障碍及情绪无常等,直至生活不能自理,给患者及家庭和社会带来严重的负担。随着世界老龄人口的迅速增加,AD病人的日益增多,AD已成为继心血管病、肿瘤病后威胁老年人生命的第三位疾病。

AD分蛋白变性型,脑血管障碍型及二者兼有的混合型,病因机制至今还没有完全搞清。其病理特征是β-淀粉样蛋白沉积脑内形成老年斑及神经细胞内的神经元纤维缠结,其发病机制与乙酰胆碱(ACh)、兴奋氨基酸、5-羟色胺、多巴胺等多种神经递质紊乱有关,尤其胆碱能系统功能缺陷更为突出。神经病理学家经过长期的研究证实,在AD病人中,学习与记忆能力的丧失与乙酰胆碱能功能下降有直接的关系。AD病人的脑皮层及海马体部位内乙酰胆碱(ACh)水平明显低于正常人水平,所以目前治疗策略的研究比较多集中在胆碱能替代疗法,寻找新的中枢拟胆碱药,其中乙酰胆碱酯酶(AChE)抑制剂是目前研究较多并广泛用于临床的一类新药。

应用胆碱酯酶抑制剂治疗AD病已取得较大进展。1993年,第一个治疗AD的乙酰胆碱酯酶抑制剂新药——他克林(tacrine,THA商品名Lognex)在美国上市,1999年其销售额达5亿美元。但该药存在严重的肝脏毒副作用,占临床服药者29%以上。多奈派齐(donepezil hydrochloride,商品名Aricept)是美国辉瑞公司和日本卫材公司共同研制开发的新一代乙酰胆碱酯酶抑制剂,并于1997年在美、英等国上市,其疗效与毒性明显优于他克林。

石杉碱甲(huperzine A, **13**)是我国科学家从中草药蛇足石杉(俗称"千层塔")[*Huperzia serrata* (Thunb.) Trev.]中分离得到的新生物碱,经药理试验证明它对乙酰胆碱酯酶有高选择性抑制作用。对脑内AChE的抑制和提高ACh水平的作用持续达6h,提高脑内ACh水平主要通过抑制AChE,进入脑内后在后脑皮层及海马区有较高浓度分布,不抑制脑皮层ACh释放,能改善脑功能谱和老年大、小鼠或各种实验损伤产生的学习、记忆障碍[8,9]。1986年首先应用于治疗重症肌无力症,取得很好的效果[10],1995年应用于脑血管硬化、血管性或老年痴呆记忆障碍均有改善作用[11]。石杉碱甲是新型的高选择性胆碱酯酶抑制剂,已经成为治疗AD的候选药物。由于其独特的药理特性和确切的疗效,而引起人们的广泛重视。



13

近年来,石杉碱甲也成为国际上研制开发新一代乙酰胆碱酯酶抑制剂的热点。国内外的科学家们对石杉碱甲的结构改造和构效关系进行了大量的研究,合成和筛选了数以千计的石杉碱甲类似物,试图寻找到疗效比石杉碱甲更好、毒性更低的化合物,但至今这方面的研究仍未有突破。

利用我国石杉碱甲的资源优势,我们从中草药千层塔中分离得到石杉碱甲,并对它的结构进行了化学修饰,希望从诸多的石杉碱甲衍生物中寻找出比现有石杉碱甲治疗效果更佳且毒性较低的化合物。

石杉碱甲经与相应取代醛或与相应取代酰氯或酸酐在无水溶剂中进行缩合的通式见图21-3。

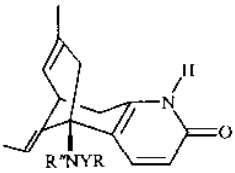
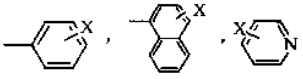
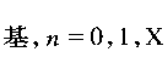
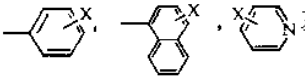


图21-3 石杉碱甲缩合通式

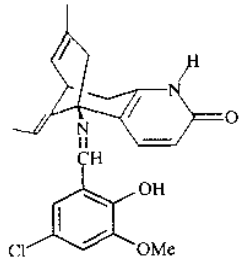
Y 为—C═O 或—R″，R 为 C_1—C_5 的低烷基；—$(CH_2)_n$，  ，$n=0,1$，X 为氢，C_1—C_5 的低烷基，C_1—C_5 的低烷氧基，硝基，卤素，羧基，酯基，羟甲基，羟基，二—C_1—C_5 的低烷基取代的氨基；—$(CH_2)_m$COOZ 基，$m=0\sim5$，Z 为氢或 C_1—C_5 的低烷基；—CH═CH—G 基，G 为苯基，呋喃基，羧基，酯基及氮上 C_1—C_5 低烷基取代的二氢或四氢吡啶基；R′为氢，C_1—C_5 的低烷基，吡啶酰基，C_1—C_5 低烷氧基取代的苯甲酰基；R″为氢及 C_1—C_5 低烷基。

当 Y 为 C═O 时，R 为 C_1—C_5 低烷基，—$(CH_2)_n$  基，$n=0,1$，X 为氢，C_1—C_5 的低烷氧基，羧基，酯基，吡啶基；氮上 C_1—C_5 低烷基取代的二氢或四氢吡啶基，—$(CH_2)_m$COOZ 基，$m=0\sim5$，Z 为氢或 C_1—C_5 的低烷基；—CH═CH—G 基，G 为苯基，呋喃基，羧基，酯基；R′为氢、C_1—C_5 的低烷基，吡啶酰基，C_1—C_5 低烷氧基取代的苯甲酰基；R″为氢及 C_1—C_5 低烷基。

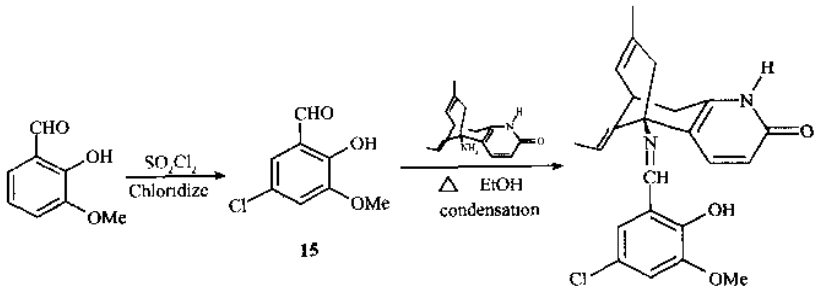
当 R″，Y 为═CH 时，R 为—$(CH_2)n$  基，$n=0,1$，X 为氢，C_1—C_5 的低烷基，C_1—C_5的低烷氧基，硝基，卤素，羟基，羟甲基，二—C_1—C_5 的低烷基取代的氨基；—CH═CH—G 基，G 为苯基，呋喃基；R′为氢及 C_1—C_5 的低烷基。

本品“石杉碱甲衍生物，其制备方法和用途”已经在国内外申报了专利[12]。

从半合成的上百个化合物中发现了新化合物希普林(schiprine，**14**)，其合成路线见图 21-4。



14



15　　**14**

图 21-4　希普林合成路线

希普林是 5-Cl-*o*-vanillin(**15**)与石杉碱甲缩合后制得，其结构具有席夫碱(Schiff base)的特性，由于该类化合物在酸、碱和水介质中均不稳定，故其制备方法一般是由芳香醛与氨基化合物在乙醇溶液中反应而得。根据 5-Cl-*o*-vanillin 与石杉碱甲的理化性质，设计了以无水乙醇为溶剂，对多种反应温度和时间进行优化，结果发现在常温及较长时间反应为佳[12]。

在测试评估希普林的抗 AChE 作用，改善记忆障碍和毒副作用等方面与石杉碱甲、他克林和多奈派齐做了比较。

体外试验检测了希普林对大鼠皮层、大鼠、牛及人细胞膜 AChE 活性的抑制作用。它的抑制酶活性

50%浓度(IC_{50})分别为 83 nmol/L、90 nmol/L、99 nmol/L 及 78 nmol/L,抑制作用强度与石杉碱甲相当,弱于多奈派齐。希普林对血清丁酰胆碱酯酶(BuChE)活性抑制最弱,它对 AChE 的选择性抑制作用约比石杉碱甲大 1 倍。实验结果说明希普林对体外大鼠乙酰胆碱酯酶的选择性抑制作用大于石杉碱甲、多奈派齐和他克林,它对多种来源的乙酰胆碱酯酶均有较强的抑制作用。希普林对乙酰胆碱酯酶的抑制作用是可逆的,属混合竞争型,其 K_i 值为 32 nmol/L。

体内试验用小鼠与大鼠两种,口服希普林各 0.5 μmol/kg、1.0 μmol/kg、2.0 μmol/kg 对各脑区 AChE 的抑制呈现剂量依赖相关。抑制作用强度与石杉碱甲相当,但比多奈派齐及他克林各强 16 倍与 120 倍。希普林对血清内 BuChE 抑制作用最弱,对脑内 AChE 抑制作用持续长达 6 h,但对血清 BuChE 抑制作用仅维持 3 h,比之石杉碱甲,多奈派齐和他克林明显短。

用成年小鼠、大鼠、猴及老年猴测试了希普林的促进与改善各种实验性记忆障碍作用。希普林对水迷宫,八臂迷宫及延迟反应记忆操作均有改善作用,希普林改善记忆功能的有效剂量为 0.05～0.1 mg/kg,作用比之石杉碱甲、多奈派齐及他克林各强 1 倍、6 倍及 15 倍。希普林肌肉注射 1～15 μg 均显示有明显促进老年猴记忆功能。大鼠经连续 7～8 天口服希普林 0.2～0.42 μmol/kg,均未见对 AChE 的抑制与改善记忆作用出现耐受现象。小鼠口服希普林 0.35 μmol/kg 明显延长 $NaNO_2$ 产生脑缺氧死亡的时间,小鼠生存时间延长 71%。在等剂量条件下,石杉碱甲延长 53.6%,多奈派齐为 11.5%。

上述药效测试的结果表明,希普林优于石杉碱甲、多奈派齐及他克林,因此具有开发用于治疗早老性痴呆症前景。

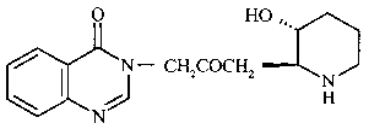
为评价希普林长期服用的安全性,进行了小鼠急性毒性、大鼠和猕猴长期毒性、生殖毒性、致突变和致染色体畸变研究。

小鼠口服 LD_{50}雌性为 53.56 mg/kg(95%可信限 43.17～66.44 mg/kg),雄性为 56.96 mg/kg(95%可信限 48.32～67.15 mg/kg)。石杉碱甲小鼠口服 LD_{50}为 4.78 mg/kg(95%可信限 4.3～5.3 mg/kg)小鼠静脉 LD_{50}为 8.9 mg/kg(95%可信限 7.56～10.48 mg/kg)。分别以 0.8 mg/kg、2.4 mg/kg、7.2 mg/kg 分为高、中、低三个剂量组,对大鼠和猕猴进行长期毒性试验,实验结果表明动物可产生对药物的耐受性,高剂量组体重增长减慢,0.8 mg/kg 剂量组除稀便外,无其他明显毒性反应。生殖毒性实验表明希普林无致畸作用,但在 1.8 mg/kg 见胎吸收增加,呈现胚胎毒性。用 Ames 试验来进行致突变检测,在 TA97、TA98、TA100、TA102、TA1535 五个菌株 $+S_9$ 和 $-S_9$ 两种试验系统中,剂量在 0.5～100 μg/皿,均为阴性。通过诱发培养哺乳动物细胞,以染色体畸变为指标,观察希普林体外试验有否引起 CHL 细胞染色体的损伤。测得希普林对 CHL 细胞 IC_{50}值为 411 μg/mL,故选 411 μg/mL、206 μg/mL、103 μg/mL 三个剂量组测试诱发 CHL 细胞染色体畸变作用。结果表明,希普林在非代谢活化($-S_9$)高剂量中有抑制细胞分裂,故小剂量选为 50.2 μg/mL。在代谢活化($+S_9$)中高剂量对细胞无抑制细胞分裂。希普林在非代谢活化($-S_9$)和代谢活化($+S_9$)对 CHL 细胞染色体畸变率均小于 5%,说明希普林无染色体畸变作用。希普林致突变阴性,对心血管和神经系统也几无影响。

目前,希普林已进入临床试验。

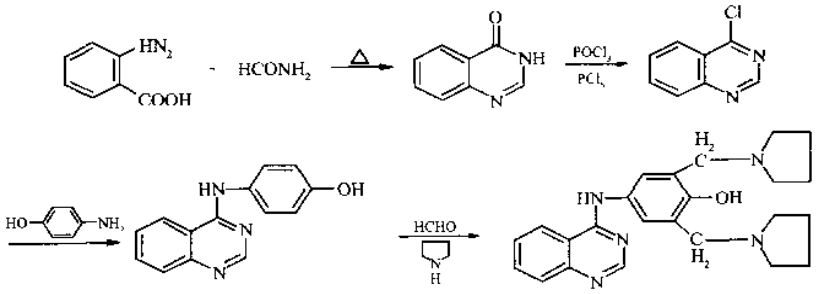
第四节 心血管药——常咯啉

常山(*Dichroa febrifuga* Lour.)用于治疗疟疾已有两千多年历史,早年已证明其有效成分之一为常山乙素(β-dichroine,**16**),是带喹唑酮环的生物碱,因其有强烈催吐作用,阻碍了其临床应用。因此,对其结构进行各种改造,保留其喹唑环,合成了一系列化合物。其中,常咯啉(changrolin,**17**)对疟原虫红内期有杀灭作用,经临床试验证实,近期疗效与氯喹相仿,毒性和副作用明显低于氯喹,但仍有疟原虫早期再现的缺点。在抗疟临床观察中,发现常咯啉有减少心脏异位节律作用,再进行动物试验证明能阻止乌头碱、乌巴因、氯化钡或缺血引起的室性心律失常,并提高刺激室颤阈[13]。再回到临床验证阐明对各种病因引起的室性早搏和阵发性心动过速有良好疗效,对使用过其他抗心律失常药而无效的顽固性心律失常患者也有良好效果。目前,常咯啉已作为抗心律失常药应用于临床。



16

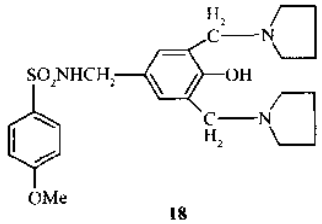
常咯啉通过以下反应步骤合成获得，见图 21-5[14]。



17

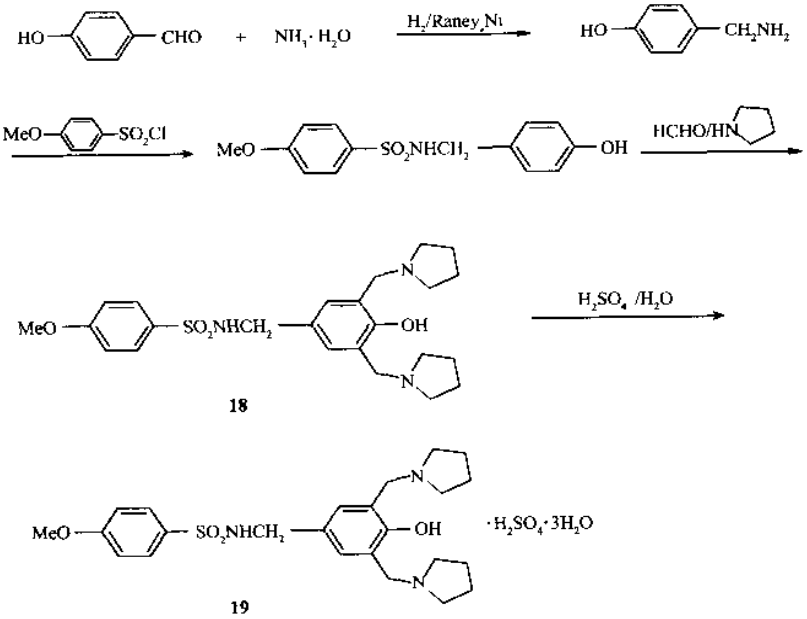
图 21-5　常咯啉合成路线

常咯啉在临床应用发现有改变皮肤色泽的副作用，因此结构改造工作继续进行。舒心啶(sulcadine，**18**)是常咯啉进一步结构改造的新化合物[15]。



18

根据国内制药工艺设备条件、化工中间体供应现状及保护环境的原则，硫酸舒心啶(**19**)的合成路线经多次改进制备工艺，最终确定了其合成路线，见图 21-6[15]。



19

图 21-6　硫酸舒心啶合成路线

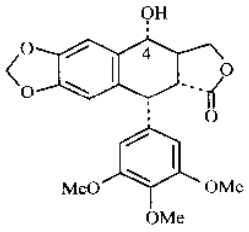
其中 4-甲氧基苯磺酰氯由苯甲醚与氯磺酸反应制得。上述合成路线和制备工艺经多次试验验证，表明设计合理，反应条件温和，收率稳定，成本低，有很好的生产可行性。

细胞电生理实验结果发现舒心啶对动物作电位的 0 相、2 相和 3 相均有影响，表现它作用于钠、钾和钙离子通道，是种复合型的离子通道阻滞剂，可能是一种有新型作用机制的抗心律失常药。动物的体内外实验研究证明，舒心啶对各种心律失常模型具有明显疗效，不少指标优于常咯啉。

第五节 抗肿瘤药

一、鬼臼毒素

鬼臼毒素（podophyllotoxin，**20**）是众所周知的具有抗癌活性的天然产物，存在于小檗科，包括八角莲属（*Dysosma*）、鬼臼（足叶草）属（*Podophyllum*）和山荷叶属（*Diphylleia*）三属 10 多种植物中。虽然其具有强的抗肿瘤活性，但又具有强的毒性，限制了它的临床应用。因此也吸引了众多天然药物化学家和药理学家对鬼臼毒素进行构效关系和结构优化研究，经大量研究工作后总结出了鬼臼毒素及其衍生物的一些构效关系。



20

鬼臼毒素 C_4 位是一个母核上 4 个手性碳原子中惟一存在碳氧的手性碳原子，许多化学反应都易在此发生，并影响它的构型，鬼臼毒素 4-位碳氧是 α 构型，若转为 β 构型，成表鬼臼毒素则毒性显著降低；反式内酯环是抗肿瘤活性必须基团，任何改变内酯环构型的鬼臼毒素类化合物均降低或失去抗肿瘤活性；E-环中的 C-4′酚羟基若被烷基或酰基保护，活性显著下降。即使以磷酸酯基封闭也如此，只有当 C-4′酚羟基上的取代基进入体内恢复酚羟基才可能具有抗肿瘤活性。因此国内外研究者均在保留 C-4 取代的 β 构型、反式内酯环和 C-4′游离酚羟基的基础上进行结构修饰。目前主要集中在 4β-*O*-取代-4′-去甲基表鬼臼毒素（**21**）结构修饰，其中代表性并已成为临床用药的是 4′-去甲表鬼臼毒素-4β-葡萄糖衍生物：依托泊苷（etoposide，VP-16，**22**）和特尼泊苷（teniposide，VM-26，**23**）。

早期 VP-16 的合成路线见图 21-7，是鬼臼毒素经溴化氢处理和水-丙酮水解得到去 4′-甲基的 4 位立体异构体（**24**），再制备成 4-*O*-苄羰基衍生物，进一步与 α-2，3，4，6-四-*O*-乙酰葡萄糖在 BF_3-Et_2O 催化糖苷元，经氢解脱除苄羰基和乙酰基后，和乙醛形成缩醛 VP-16[16, 17]，以**24** 计得率为 18%。若用同一保护基保护糖的醇羟基和 4′-位酚羟基，并将亚乙基反应置合成路线之首，显著提高合成总产率，以**24** 计为 35%。马维勇等[18]在鬼臼毒素结构修饰中发现化合物**24** 分子中处于 C_4 位的碳正离子能与 B 环的 π 电子形成缺电子的 p-π 共轭，其结构较为稳定，多数亲核取代其历程为 S_N1。同时，构象分析表明，由于 C_1 位上的芳环以及 $C\text{-}1_a$ 位连接的 γ-内酯同处于 C 环的一侧，占据了 α-面较大的空间，给亲核试剂造成较大的立体障碍，因此有利亲核试剂选择位阻较小的 β 面进攻，形成 β 构型衍生物。BF_3-Et_2O 催化的亲核取代对 C_4′位酚羟基应无影响。因此，用未经保护的**24** 和边链糖部分直接在 BF_3-Et_2O 催化下即得 VP-16，该方法路线简短，操作方便，便于工业化生产，以**24** 计得率达到 54%～56%。

由于 VP-16 和 VM-26 两个药存在着抗瘤谱窄、生物利用度低、骨髓抑制和胃肠道毒副作用等不足，因此对鬼臼毒素的结构改造研究还在广泛地进行中。目前主要在保留内酯环的反式取向和 C_4′游离酚羟基的基础上，对 C_4 位氧原子或其电子等排同系物的 β-构型取代基的变换：①在 VP-16 和 VM-26 的基础上将糖基侧链改为同时含羟基和氨基或烃酰基、卤代酰基、磺酰胺基等，其中像 4-去氧-4β-芳甲磺酰胺基-4′-去甲鬼

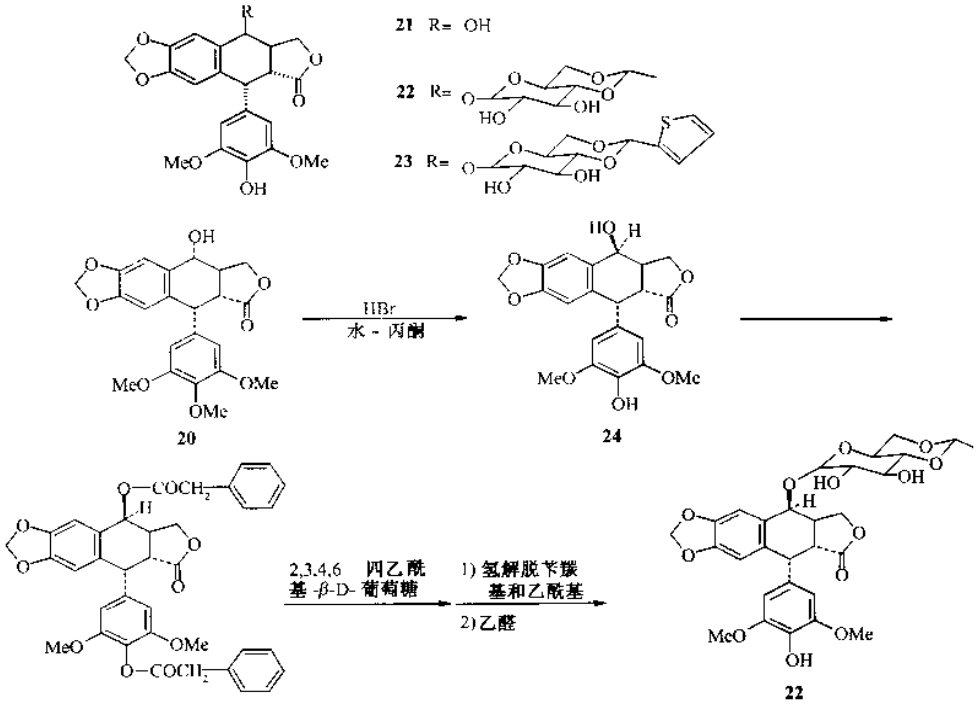


图 21-7　VP-16 合成路线

臼毒素，对 KB 细胞和 L_{1210} 比 VP-16 有较好的抑制活性[19]；②以 4-位氧原子变换为电子等排同系物的 β-构型取代基，如 4β-*N*-取代、4β-S-取代、4β-Se-取代表鬼臼毒素衍生物，其中 GP-7，4-氨基-2，2，6，6-四甲基-哌唑氮氧自由基衍生物较 VP-16 毒性低，活性相近，很有希望成为新药上市[20]。

二、喜　树　碱

喜树碱[20(S)-camptothecin，CPT，**25**]是 1966 年由 Wall 等从珙桐科植物喜树（*Camptotheca acuminata* Decne.）[21]，后又从 *Nothapodytes foetida*[22]、*Ervatamia heyneana*[23]、*Pyrenacantha klaineana*[24] 中分离得到的吡咯[3,4-*b*]喹啉生物碱，是重要的广谱抗癌活性天然产物。虽然后来在临床上喜树碱治疗胃癌、直肠结肠癌、肝癌、白血病等恶性肿瘤有较好疗效，但它有骨髓抑制、出血性膀胱炎及腹泻等严重的毒副反应，限制了它的应用。直到 1985 年 Hsiang[25, 26] 等发现喜树碱能够抑制参与 DNA 复制和转录的拓扑异构酶Ⅰ（topoisomerase Ⅰ，topo Ⅰ），它通过与 topo Ⅰ-DNA 的可裂解复合物可逆结合形成三元复合物而抑制 DNA 的解旋，导致磷酸二酯键的断裂，产生细胞毒作用，再次激起人们对喜树碱的兴趣[27]。CPT 在作用过程中其内酯环打开，酰基与 TOPO 中的亲核部分相互作用，抑制 TOPO。由于喜树碱水溶性差和上面提到的临床使用毒副作用较严重的缺点，人们一直致力于结构修饰，寻找高效、低毒及水溶性的喜树碱衍生物。

喜树碱的结构修饰主要集中在水溶性喜树碱衍生物半合成（图 21-8），其中之一是喜树碱氧化得 10-羟基喜树碱，随后经 Mannich 反应产生 *N*-取代 9-（二乙基胺）-10-羟基喜树碱类或 Mannich 反应后继续修饰。也有的从 10 位羟基进行修饰，还包括全合成 7-取代的喜树碱类似物，共合成了 34 个类似物[28]，其中 9-二甲胺甲基-10 羟基-喜树碱 9-[(dimethylamino)methyl]-10-hydroxycampotothecin，又称 TPT（**26**），显示广谱抗肿瘤活性，商品名为拓扑特肯（Topotecan），是一种水溶性的半合成喜树碱衍生物，在 9 位上有一个稳定的碱性侧链，血浆中 TPT 的内酯占总药的 33%，血浆蛋白结合率低于 20%，比报道过的其他喜树碱衍生物均低，这可能正是 TPT 易进入脑脊液的原因。TPT 用于晚期难治的卵巢癌，甚至用于其他化疗药无效的卵巢癌的治疗，在小细胞肺癌和非小细胞肺癌中，TPT 对以前未经治疗病人均有一定的疗效[29]。

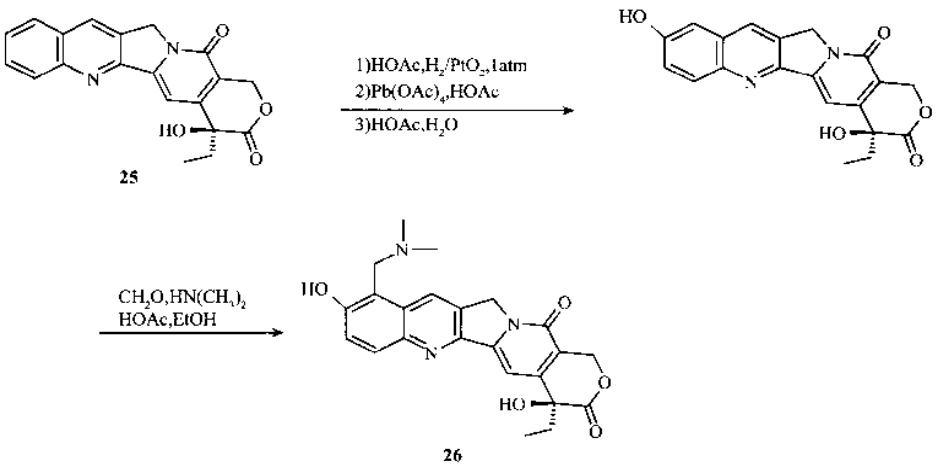


图 21-8 水溶性喜树碱衍生物半合成路线

另一条路线是喜树碱先转化到 7-乙基喜树碱，再氧化到 7-乙基-10-羟基喜树碱，10 位酚羟基通过羧酸酯转化到 10 位二胺基类边链，共合成了 36 个衍物，其中 7-乙基-10-(哌啶基-1-哌啶基)羰氧喜树碱[7-ethyl-10-(4-piperidino)-1-piperidino-carbonyloxy-camptothecin]，又称 CPT-11（**27**）[30]，商品名为伊诺替康(Irinotecan)，其合成路线见图 21-9。在血浆中 CPT-11 的内酯占总药(内酯 + 羧酸盐)的(36.8 ± 3.5)%。CPT-11 对转移性结肠直肠癌有效，对经 5-Fu 治疗过的结肠直肠癌病人也有效。已经于 1996 年得到 FDA 批准。CPT-11 每周使用 1 次作为转移性结肠直肠癌的二线治疗药物，这标志着自 5-Fu 发现以来，第一个用于治疗转移性结肠直肠癌的新型药物问世了。CPT-11 对非小细胞肺癌和小细胞肺癌均有一定疗效[30]。

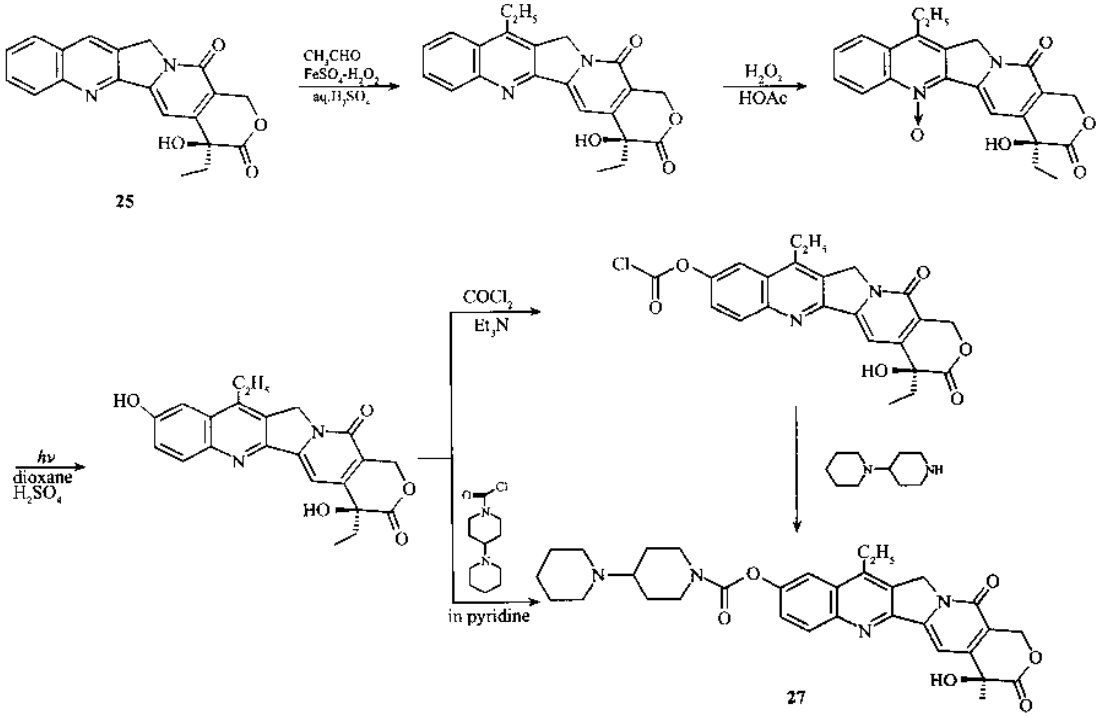


图 21-9 CPT-11 合成路线

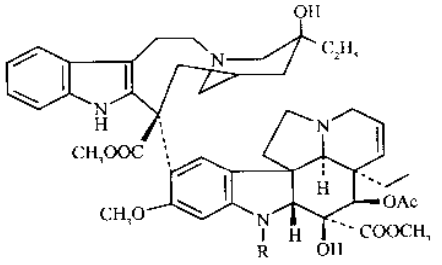
除上述两个喜树碱衍生物已应用临床外，尚有几个衍生物有应用前途的，如 9-氨基喜树碱（9-aminocamptothecin，9-AC）[31]、9-硝基喜树碱（9-nitrocamptothecin）[32]等在临床试验中。

我国在喜树碱及其结构修饰方面都做了不少工作，药理研究证明喜树果中分离得到的 10-羟基喜树碱有较广的抗瘤谱，对小鼠艾氏腹水瘤、吉田肉瘤和肝癌腹水瘤等均有显著效果，毒性较喜树碱为小，并首次应用于临床，对肝癌和头颈部肿瘤如涎腺癌等有一定疗效[33]。为了进一步扩大药源，更好地满足临床使用的需要，朱关平等[34]进行了喜树碱转为 10-羟基喜树碱的生物转化研究，从 150 株真菌中筛选了 T-36 菌株能将喜树碱转化为 10-羟基喜树碱，得率为喜树碱投料量的 1/10 左右。

进一步选用带有不同取代基原料合成了 12 位取代喜树碱类似物，其中 12 位氯代、羟基代或甲氧基喜树碱对小鼠艾氏腹水瘤的作用比喜树碱强，如喜树碱内酯环上的羟基酰化或还原均失去抗癌活性[35]。

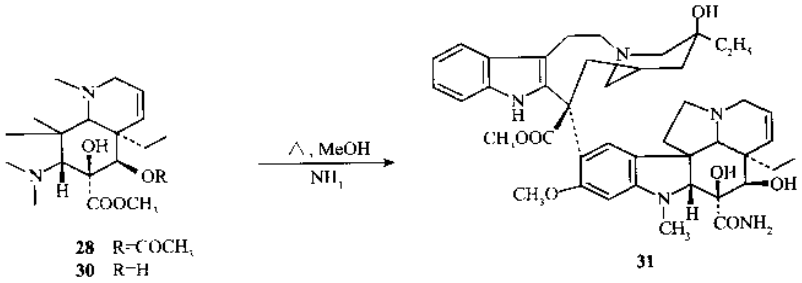
三、长春新碱

长春碱（vinblastine，VLB，**28**）和长春新碱（vincristine，VCR，**29**）均是从夹竹桃科植物长春花（*Vinca rosea* L.）中分离得到的双分子吲哚生物碱，它们均有抗白血病作用。



28 R=CH_3
29 R=CHO

长春碱和长春新碱因神经毒性而限制临床应用，所以对它们进行了一系列结构修饰。在众多的衍生物中，长春地辛（vindesine，VDS，**31**）是一个比较典型的代表，它是由长春碱、长春碱硫酸盐或者去乙酰基长春碱（**30**）通过 C_{23}-甲酯基偶合失去乙酰基的文朵灵（vindoline）部分选择性的氨解而得到。



28 R=$COCH_3$
30 R=H

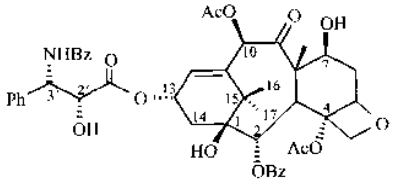
31

药理学研究表明：当剂量为 0.4 mg/kg 和 0.25 mg/kg 时，长春地辛对 Ridgeway 骨髓瘤（ROS）和 Gardner 淋巴瘤（GLS）具有抑制活性，而它的母体生物碱长春碱在剂量 0.5 mg/kg 时对这两种肿瘤细胞没有活性。长春地辛抑制 Mecca 淋巴瘤的活性与长春新碱相当，分别为 60% 和 68%，面长春碱的抑制率为 41%。长春地辛对 Ca755 乳腺癌显示中度抑制，抑制率为 46%，长春新碱为 39%，长春碱则无抑制反应。长春地辛可以明显延长带有 B_{16} 黑素瘤小鼠的存活时间。在记录存活 45 天的同一个试验中，长春地辛给药组有 30% 和 100% 的存活率，面长春碱则是 20% 和 80%。在另一个试验中，观察促使培养中国仓鼠卵细胞有丝分裂细胞积累的最小有效浓度，当达到 10%～15% 的细胞积累时，测得长春地辛、长春碱和长春新碱的最小有效浓度分别是 2.3×10^{-9} mol/L、2.2×10^{-8} mol/L 和 7.3×10^{-9} mol/L，而当达到 40%～50% 的细胞积累时，测得它们的最小有效浓度分别又是 2.8×10^{-8} mol/L、8.3×10^{-8} mol/L 和 2.4×10^{-8} mol/L。长春地辛、长春碱和长春新碱均可使接种了 P_{388} 白细胞、Walker 256 和 Ehrlich 腹水瘤动物延长存活时间，有效率为 100%。当每天剂量为 1.0 $mg\cdot kg^{-1}$ 时，长春地辛对 L_{1210}、AKR，L_{5178} 和 C_{1498} 白细胞无抑制作用[36]。

长春地辛的活性在抑制侵蚀性肿瘤系统方面相似于长春新碱但强于长春碱，但在把鸡和猴用作测定神经肌肉障碍试验模型的试验中，通过比较长春地辛和长春新碱发现前者的神经毒性却要小于后者。临床研究表明长春地辛对成年非淋巴细胞白血病和儿童急性淋巴细胞白血病有显著疗效，且神经毒性要比长春碱和长春新碱低[37]。目前，长春地辛已应用于临床。

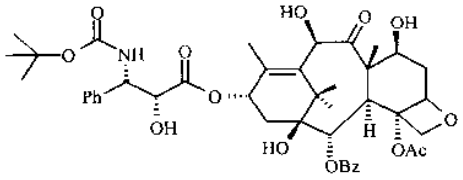
四、紫 杉 醇

紫杉醇(taxol，**32**)是近年来发现的疗效显著的抗癌药物之一，它是 1992 年获美国 FDA 批准上市，用于治疗卵巢上皮癌，也可用于转移性乳腺和小细胞肺癌及头颈部癌的治疗。



32

微管是真核细胞独特的组成部分，具有重要的细胞功能包括有丝分裂染色体的移动、细胞形成的调节、激素的分泌、颗粒的运输、膜上受体的固着和细胞活动。紫杉醇所以引起世界上各相关学科的科技人员的关注是由于：首先是它的独特的作用机制，它通过促进极为稳定的微管聚集，并阻止微管正常性的生理解聚，从而避免了癌细胞的快速分裂，使其停止在 C_2 期和 M 期，直至死亡，并抑制组织再生；对化学家而言，分子中含有多个不同位置和立体取向的含氧取代基，母核含九个手性中性，侧链含两个手性中心，同时其分子骨架呈"笼状"结构，使得经常会出现重排反应和邻位基团参与反应，为研究选择性反应提供了很好的机会。另外，紫杉醇在植物体内含量极低，目前临床上紫杉醇用药靠植物中提取，或由植物中含量较高的 10-去乙酰白卡亭Ⅲ(10-deacetyl-baccatin Ⅲ，10-DAB Ⅲ，**33**)半合成转化而成。由于该类植物生长缓慢，天然资源有限；紫杉醇也存在水溶性差、对某些癌症无效、易产生多药耐受性等缺点，因此进行构效关系和结构修饰优化研究，以求寻找高效低毒、抗瘤谱广、综合性能好又不依赖自然资源的新一代紫杉醇类抗癌药具有重要意义[38,39]。



33

紫杉醚(taxotere，**34**)[40]是 3′-*N* 上修饰改造最成功的代表，其活性甚至高于紫杉醇[41]。NMR，X 单晶衍射及计算机分子模型计算均表明 3′-*N*-酰基与 2-苯甲酰基均很靠近，这种相似的构象解释了类似的活性。

紫杉醚是 10-去乙酰基巴卡亭Ⅲ的衍生物。将适当保护的 10-去乙酰基巴卡亭Ⅲ与全合成的具有活性的侧链(**35**)连接，然后去保护而生成结晶的紫杉醚，合成路线见图 21-10[42]。

迄今为止，紫杉醚是紫杉醇结构改造惟一被批准生产上市的新药，它是所有紫杉醇结构修饰衍生物中最成功的例子。

体外实验表明，在缺少鸟苷三磷酸(GTP)的情况下，紫杉醚具有较强的诱导微管聚合的功能。作为微管解聚抑制剂，紫杉醚不但具有很强的活性，而且不改变微管原丝体的数目，它能使多重阵式的无规则微管呈束状平行排列。

鼠和人体的几个细胞培养系被用来测定紫杉醚的细胞毒性，减少增殖细胞的 50%(IC_{50})范围为 4～35 ng/mL，此浓度也适合于临床试验。抗增殖反应的测定采用与临床相关浓度的紫杉醚对新鲜的外植人体肿

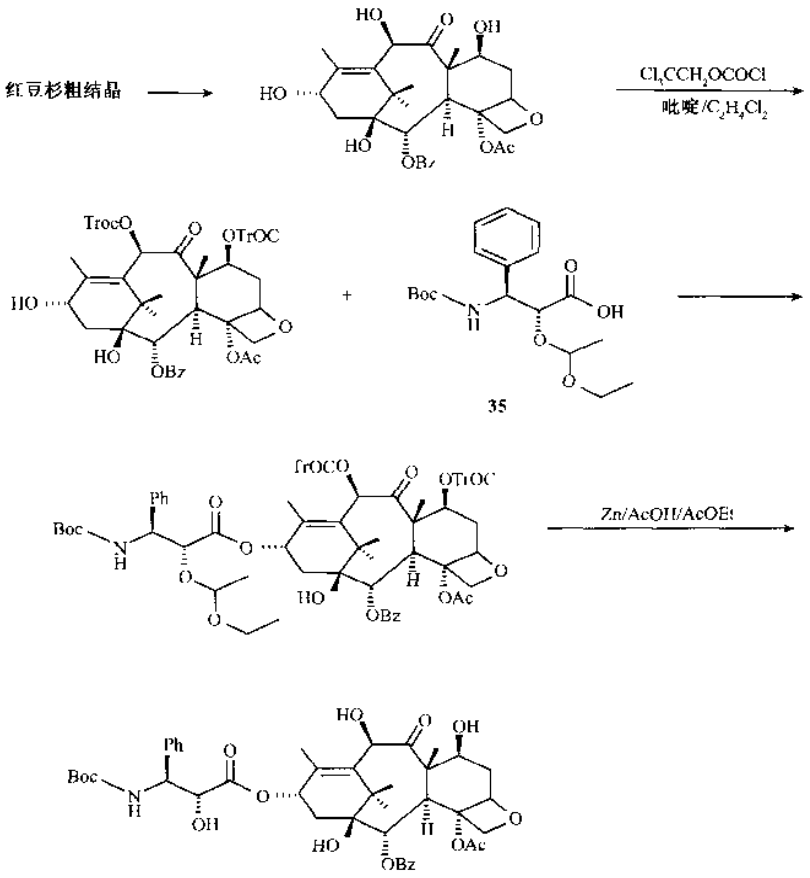


图 21-10　紫杉醚合成路线

瘤品种和克隆单位(胸、肺、卵巢、结肠癌和黑素瘤)的细胞毒性进行测试。实验结果表明,紫杉醚对外植人体肿瘤具有广泛的生物活性,对增殖细胞的毒性要强于非增殖细胞,且毒性的强弱取决于增殖细胞的生长时间和浓度。

小鼠药代动力学研究显示双相组织消除时最终半衰期为 2.2～4.5 h,而肿瘤存活显著延长时消除最终半衰期为 22 h。毒性主要表现为神经运动毒性(小鼠)、胃肠道毒性(狗)和造血机能毒性(所有物种)。狗是表现最敏感的物种。临床给药剂量为 5 mg/m^2,这是基于狗低毒性剂量(15 mg/m^2)的 1/3 而确定。

紫杉醚几种不同疗程的治疗方案已经被用于一系列 I 期临床研究,注入延续时间的增加或者一个 5 天的疗程,引起了黏膜炎发生率增加而抗肿瘤活性没有明显的提高。较短的注入时间与更加频繁的皮肤反应有关。根据可接受毒性最大剂量,II 期临床的推荐剂量为 100 mg/m^2,1 h 注入延续 3 周。临床研究表明,紫杉醚用于治疗乳腺癌、卵巢癌、胰腺癌、非小细胞肺癌和头颈部癌等疾病,疗效显著[42],并已于 1996 年得到美国 FDA 批准上市。

有关紫杉醇的结构修饰详见第七章。

五、斑　蝥　素

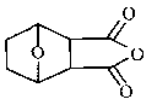
斑蝥(*Mylabris phalerata* Pallas)是鞘翅目芒青科的一种昆虫,我国常用动物中药,功能是攻毒逐淤。外用治恶疮、顽癣、口眼歪斜;内服治瘰疬、狂犬咬伤。其主要活性成分是斑蝥素(cantharidine,**36**)。

动物实验证明,斑蝥素对小鼠腹水型肝癌、网织细胞肉瘤有一定的抑制作用,对小鼠免疫状态的实验研究指出没有明显的免疫抑制作用。临床治疗原发性肝癌有一定的疗效,不降低周围血相中的白细胞。在临

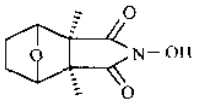
床应用中，比较明显的不良反应是泌尿系统和消化道系统的毒副反应。因此，以此为先导化合物进行大量类似物合成，以寻找降低其毒副作用的新化合物成为斑蝥素的替代品。

斑蝥素为酸酐化合物，经氢氧化钠水解，所成斑蝥酸钠对小鼠艾氏腹水癌细胞有明显的抑制作用，临床治疗肝癌和膀胱癌有效，但有泌尿道和消化道副作用。将酸酐与各种胺作用，可生成带不同取代基的酰亚胺，水解将慢于酸酐，逐渐释放斑蝥酸，毒性自应降低。

迄今为止，已经合成了许多类似物，其中去甲斑蝥素（norcantharidine，**37**）和羟基斑蝥素（*N*-hydroxycantharidine，**38**）两者毒性均已较大地降低。氮上带有多种其他取代基的酰亚胺化合物对艾氏腹水癌皮下型和肉瘤 180 腹水型等也有不同程度抑制作用，但分子的环内氧桥去除便失去活性。小鼠静脉注射斑蝥素、去甲斑蝥素、羟基斑蝥胺的 LD_{50}分别为 2.1 mg/kg、11.8 mg/kg、1037 mg/kg。目前，这两种化合物已用于临床治疗原发性肝癌[43]。



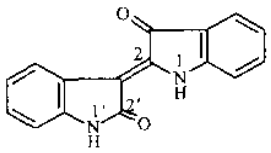
37



38

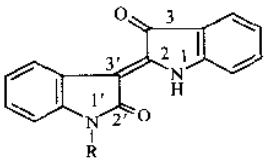
六、靛 玉 红

靛玉红（indirubin，**39**）是从中药青黛（*Indigofera tinctoria* L.）分离得到的有效成分，青黛是成药当归芦荟丸 11 味中药中的一味，此成药有活血化淤和消肿作用，中医用作治疗慢性粒细胞白血病取得一定效果，后来拆方研究发现其中主要为青黛有抗白血病活性，最后从中分得活性成分为双吲哚类化合物——靛玉红。



39

靛玉红无论对动物移植肿瘤及人体肿瘤都有一定的治疗作用，经临床证实其对慢性粒细胞白血病有一定疗效，但其水溶性与脂溶性均低，口服吸收受到限制，因而临床生效较慢，部分病人引起腹痛、腹泻，甚至便血等胃肠道刺激症状，另外其结构比较新颖，引起人们的兴趣，因此对靛玉红进行构效关系和结构修饰研究，寻找疗效更好、毒副反应低的类似物。经合成了大量的类似物和抗肿瘤试验后得出如下构效关系：双吲哚骨架无论在 2,3 位、2,2 位或 3,3 位相连，均能保持其疗效；N_1 位取代能增该类化合物的抗癌活性，但取代基链长超过 4C 以上则疗效降低或消失；N_1 位上取代烷基，可能破坏化合物平面关系，产生位阻而失去活性；增加化合物溶解度也可提高疗效。溶解度小并熔点高的原因，可能由于亚氨基与羰基形成氢键，因将氮上引入取代基，以阻碍氢键形成，结果 $N_{1'}$-乙基化合物（**40**）对大鼠 Walker 256 肉瘤及小鼠 Lewis 肿瘤的抑制作用增强，$N_{1'}$-甲基（**41**）、正丙基（**42**）、乙酰基（**43**）及乙氧羰基（**44**）取代化合物的抑制作用也较强。其合成方法以靛玉红为原料，采用相转移催化反应合成。一般用 25% 氢氧化钠水溶液及四氢呋喃为两相系统，烷化剂在苄基氯化铵（BTEAC）为催化剂下完成，此反应一般只发生在 $N_{1'}$上。为证明相转移催化反应烷化基取代位置，用 N-甲基吲哚满二酮与吲羟缩合而得 $N_{1'}$-甲基靛玉红与化合物（**41**）完全一致而得到证实[44]。

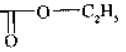


40 R=C_2H_5

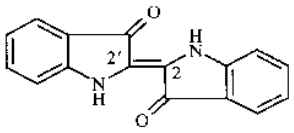
41 R=CH_3

42 R=C_3H_7

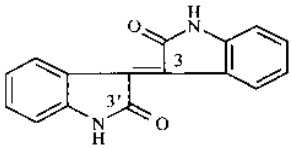
43 R= 

44 R= 

靛玉红的位置异构体靛蓝(**45**)或异靛蓝(**46**)本无抗癌活性,同样在 $N_{1'}$ 上引入取代基如甲基、乙基也产生抗癌活性,但丙基取代时失去抗癌活性,在 $N_{1'}$ 和 N_1 上同时取代则无效。甲基靛玉红的羰基转变为相应肟后,抗癌活性更强[45]。

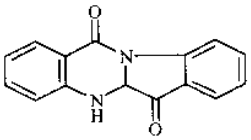


45

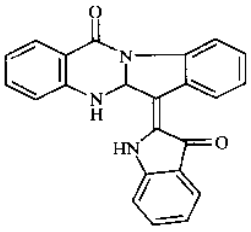


46

在临床上,靛玉红应用于慢性粒细胞白血病,作用相似于 Busuifan,但毒性较低[46]。进一步研究又分得效果更好的 trytanthrin (**47**)和 qingdainone(**48**)[47]。



47



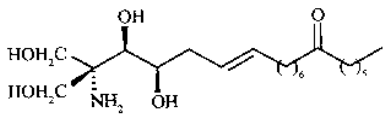
48

最近有报道靛玉红及其衍生物可阻断依赖细胞周期蛋白的激酶(CDKS) 的作用,该酶与细胞分裂有关,阻断这种酶的作用可很大程度上延缓疾病进程,因此随着对靛玉红类化合物作用机制研究的深入,对这类化合物的结构修饰将进入一个新的高潮。

第六节　免疫抑制剂

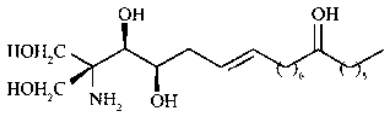
免疫抑制剂在器官移植和治疗自身免疫性疾病,如类风湿关节炎、系统性红斑狼疮、银屑病等有着重要的临床应用价值。

1980 年,日本 Fujita 等从一种冬虫夏草菌(*Isaria sinclarii*,ATCC 24400)的发酵培养液分离得到的 ISP-1 是一种小分子的亲脂氨基酸,经结构测定,即为曾从其他菌中如:无孢菌类(*Mycelia sterillia*)、多球菌类(*Myriococcum albomyces*)及木霉多孢菌(*Trichoderma polysporum*)分离得到的多球壳菌素(myriocin,**49**)。



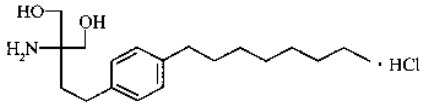
49

它在鼠同种的混合淋巴白细胞反应(MLR)中,对淋巴细胞抑制作用比环孢素强 10 余倍,对抗源促进的淋巴细胞是专一的,而不是由于其非专一的生长抑制作用。在体外实验并不影响各种白细胞株的生长,在体内抑制各种反应细胞毒性淋巴细胞传代和依赖 T-细胞的抗体产生比环孢素要大 10～100 倍。其作用机制也与环孢素不同。它抑制白细胞介素-2(IL-2)诱导的 T-细胞增殖,但不影响同种抗原促进的 T-细胞的 IL-2 的产生。通过进一步研究,又从无孢菌类(*M. sterillia*)中分离得到一系列的类似物 mycestericins A～G,研究其构效关系,并进行结构改造和类似物合成,开始将羧基还原到羟甲基化合物**50**,**50** 虽然抑制活性比 **49** 低,但在体内试验时能延长移植皮肤的存活时间,毒性小近 30 倍。



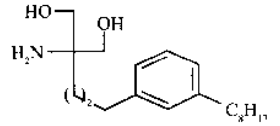
50

在构效关系研究中，简化疏水部分是可能的，先合成了先导化合物**51**。



51

化合物可以分成亲水和亲脂两个部分，在**50** 亲脂部分的双键是对活性有利的，因此在两部分中间引入苯环，合成了一系列化合物。对同种小鼠移植动物的药理试验证明，其中 FTY720(**52**)可大大延长皮肤移植的存活时间，0.1 mg/kg 口服即可延长动物皮肤存活时间，腹腔注射 10 日对同种移植动物的免疫抑制作用比环孢素强 30 倍。对动物心脏、肾脏移植可明显延长存活时间。FTY720 与环孢素联合应用有协同作用，在狗肾移植试验时单独用 5 mg/kg FTY720 或 10 mg/kg 环孢素，分别可使狗存活时间为 12 日和 11 日，而以 5 mg/kg FTY720 和 10 mg/kg 环孢素联合用药，平均存活时间为 80 日。

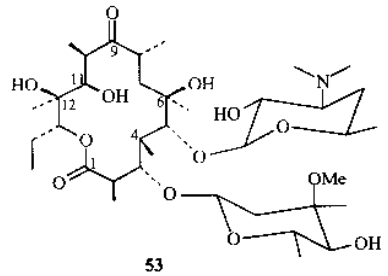


52

FTY720 的作用机制与 ISP-1 相同，并不抑制 IL-2 的产生，体外对人白细胞株生长无抑制作用[48,49]。

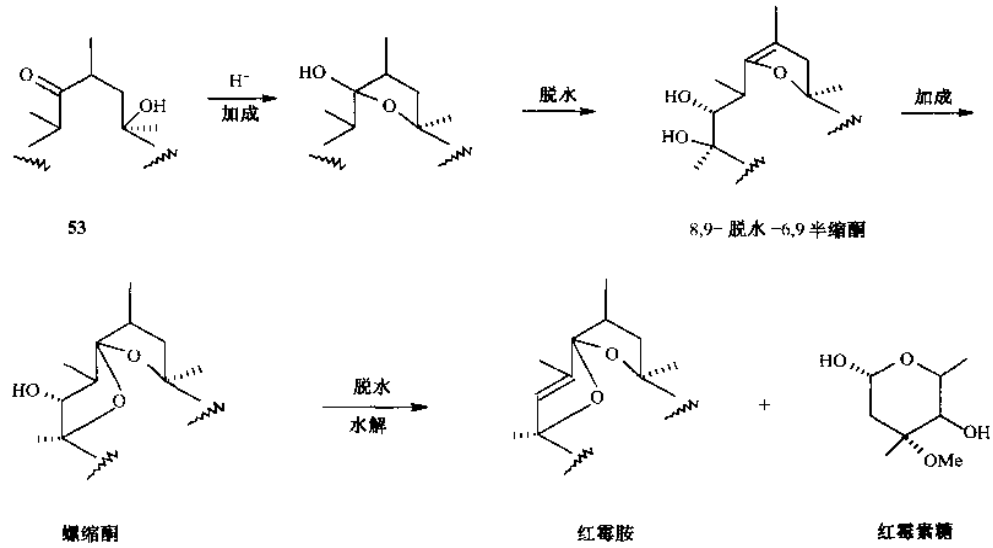
第七节 抗菌素——红霉素

红霉素(erythromycin，**53**)是临床上使用的第一个有代表性的大环内酯抗生素，它是由红霉内酯(erythronolide)的 5 位与红霉脱氧糖胺(desosamine)，3 位与红霉支糖(cladinose)缩合而成碱性苷。



53

自 1952 年红霉素临床应用以来，由于其对多种病菌有效，如耐药的金葡菌、肺炎球菌、溶血链球菌、军团病菌、弯曲杆菌、肺炎支原体、衣原体感染和性病等有治疗作用，因此引起极大兴趣。然而红霉素存在着水溶性差、血药浓度低、抗菌谱窄、服用剂量大，对胃肠道副作用大，尤其他对酸极不稳定，开始针对水溶性和稳定性差，半合成了一些红霉素 2′位的酯类化合物，如红霉素碳酸乙酯(ethylcarbonate)、红霉素硬脂酸(stearate)和无味红霉素。最近临床上正在进行评估的这类衍生物是 2′-*O*-乙酰红霉素硬脂酸盐，还有两个正在研究的新 2′-*O*-丙酰红霉素奎硫基琥珀酸盐和 *N*-乙酰红霉素半胱氨酸盐[50]。在酸性条件下，红霉素 C-6 位羟基与 C-9 位酮基形成半缩酮羟基，接着与 C-8 上氢消去一分子水，形成 8，9-脱水-6，9 半缩酮化合物，然后C-12 上羟基与 C-8，C-9 双键加成，得 6，9-9，12-螺缩酮；C-11 羟基与 C-10 上氢脱去一分子水，同时水解成红霉胺和红霉素糖，从而失去抗菌活性[51]。



对红霉素的结构修饰关键点是要阻止酸催化下分子内环合降解作用，根据上述降解历程，降解位点是C-9酮羰基、C-6羟基、C_8-质子和C-11,12二醇，如果对这些部位进行结构修饰改造，有望阻止失效，从而提高有效药物的血药浓度，延长了半衰期，改进组织移行性，减少用药量和不良反应，增强疗效。对红霉素9位酮羰基的结构修饰，制备了一系列肟衍生物。其中罗红霉素(roxithromycin，**54**)抗菌谱与体外抗菌活性与红霉素相似，但对酸稳定，并能迅速经胃肠道吸收，有较高血药浓度，每12 h服一次，即可维持有效血药浓度，能广泛分布到组织和体液，无蓄积作用，对呼吸道、肺、泌尿道、软组织、皮肤等感染均有效，耐受性好、毒副反应小[52~54]。1987年，罗红霉素在法国被批准上市。罗红霉素的合成路线见图21-11[55]。

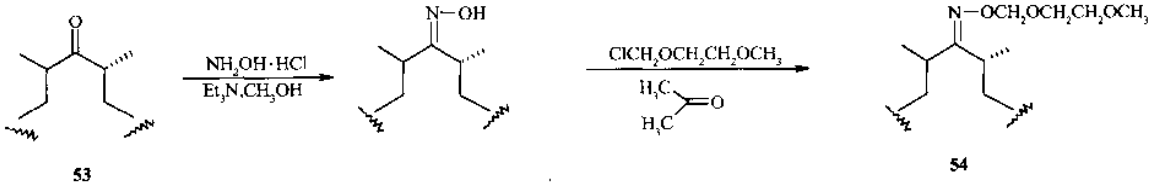


图21-11　罗红霉素合成路线

红霉素肟进一步经Beckmann重排、扩环、还原、*N*-甲基化等反应，使氮原子引入到大环内酯骨架上，得到一个15元大环内酯红霉素衍生物阿齐霉素(azithromycin，**55**)[55~57]，合成路线见图21-12。

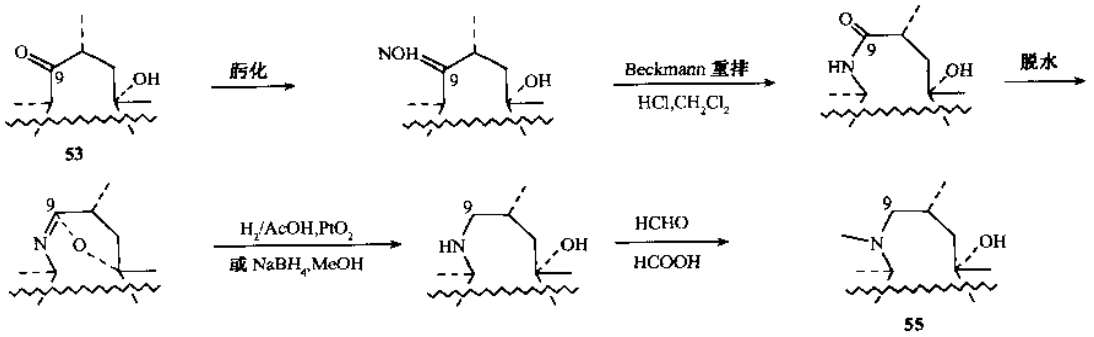
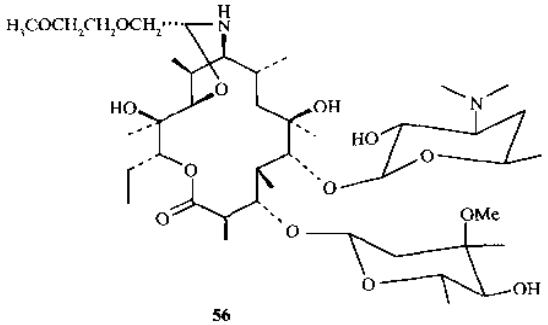


图21-12　阿齐霉素合成路线

本品对酸稳定，组织浓度大于血药浓度，半衰期长，其抗菌特点是对需氧和厌氧革兰氏阴性菌、细胞内病原体、支原体和衣原体有较强的抗菌作用。

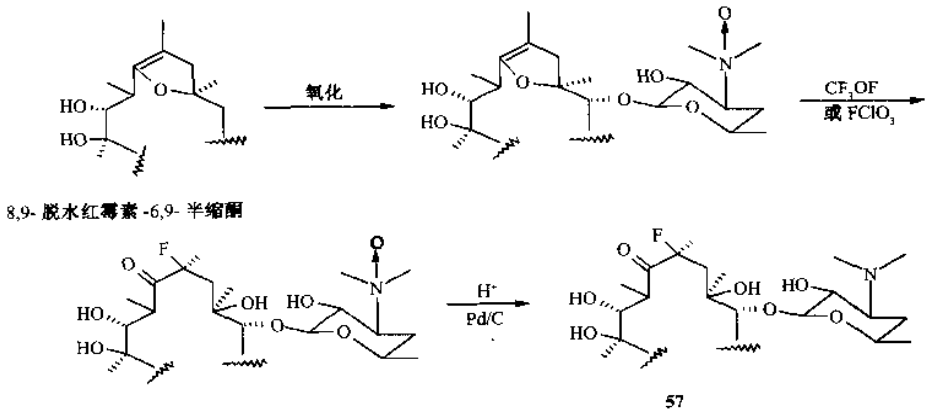
9-位酮基修饰尚有地红霉素（dirthromycin, **56**），先将 9-位酮基转化为胺基得红霉胺（erythromycylamine），再与 2-甲氧基乙氧基乙醛缩合制得地红霉素[58,59]。



56

本品对酸稳定，半衰期长达 20～50 h，增强了对革兰氏阳性菌、幽门螺旋菌和衣原体、军团菌的活性，并且有一定的免疫调节作用和药代动力学性质。

红霉素 A 8-位修饰：应用电子等排序，将原子半径与氢相近的氟代替 8-位质子，得到氟红霉素（flurithromycin, **57**），其合成路线是用 8,9-脱水红霉素-6,9-半缩酮衍生物与三氟甲基次氟酸或氟化高氯酸反应，然后对 *N*-氧化物催化还原制得，合成路线见图 21-13[55]。



57

图 21-13 氟红霉素合成路线

本品对酸稳定，血药浓度较高，组织分布广，半衰期 8 h，并有一定的抗生素后效应；对肝脏无毒性，是广谱低毒抗菌素，且对化脓性链球菌、肺炎链球菌和金黄色葡萄球感染小鼠的保护作用优于红霉素。

红霉素 6 位修饰：红霉素得到羟肟用三甲基氯硅烷作保护基，甲基化后再脱保护基得到克拉霉素（clarithromycin, **58**），或者用红霉素制备 3-*N*-脱甲基红霉素，然后用氯甲酸苄酯作保护基，经甲基化后，催化氢解脱去保护基，最后还原甲基化得克拉霉素[60]。

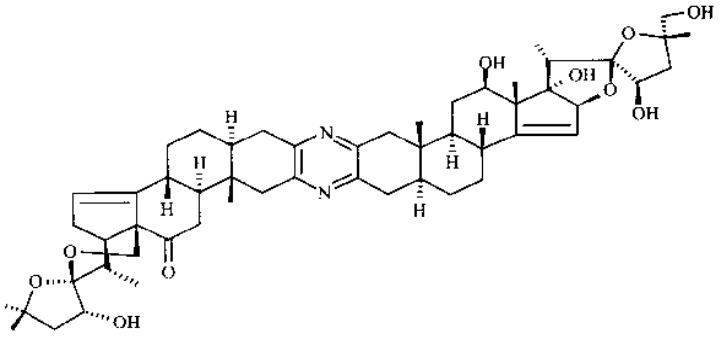
克拉霉素耐酸，血药浓度高而持久，对需氧菌、厌氧菌、支原体、脲原体、衣原体等病原菌有效。体内活性比红霉素强 2～4 倍，ED_{50}相当于红霉素的 1/2～1/24，临床应用表明对非淋球菌及衣原体所致尿路感染有效率达 90％以上，对呼吸道、泌尿道、皮肤、耳鼻喉科多种感染疗效显著[56]。

综观近年来红霉素的结构修饰及构效关系研究已取得很多实质性的成果，为临床提供了不少疗效比红霉素更好的新药品种，但以红霉素作为先导化合物进行结构修饰研究方兴未艾，还在深入的进行研究中。

第八节　甾体药物

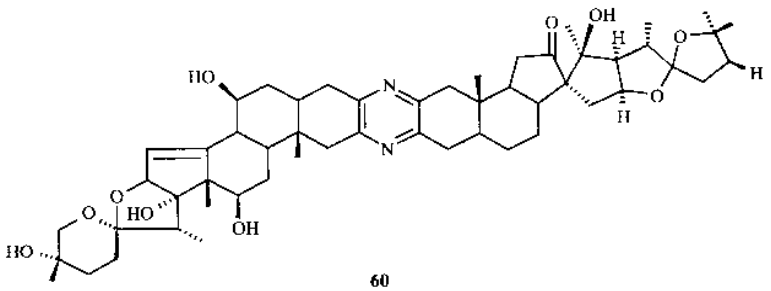
甾体化合物(steroid)是一类重要的天然产物,广泛存在于生物体内并有着重要的生理活性。现在不少药物是甾体类化合物,如肾上腺皮质激素类药物:氢化可的松(dihydrocortisone)、地塞米松(dexamethasone)、氢化泼尼松(hydroprednisone);避孕药:双炔失碳酯(anodrin)、甲地孕酮(megestrol)、炔诺酮(norethisterone);性激素:甲基睾丸酮(methyltestesterone);强心苷类药:地高辛(digoxine)、洋地黄毒苷(digitoxine)、西地兰(cedilanide)、毒毛旋花子苷 K(strophanthine);利胆药:去氢胆酸(dehydrocholic acid)、鹅去氧胆酸(chenodeoxycholic acid)等。它们有的完全来自天然产物,有的来自天然甾体化合物的半合成品,尤其薯芋和剑麻甾体皂苷元是各类甾体药物的重要合成前体。

1988 年,Pettit[61]从海洋生物 *Cephalodiscus gilchristi* 中分离得到一个具有显著抗肿瘤活性的吡嗪双甾体化合物 cephalostatine 1 (**59**),它对 P_{388}的 ED_{50}为 $1\times10^{-7}\sim1\times10^{-9}$mol/L,随后又分离得到一系列同类化合物,包括 cephalostatine 2,3,…,19。



59

1994 年,Fusetani 等[62]从日本海的海洋生物 *Ritterella tokioka* 中分离得到结构类似于 Cephalostatine 的吡嗪双甾体 ritterazine A (**60**),继而又分离得到 ritterazine B,C,D,…,Z,它们的抗肿瘤活性比 cephalotatine 类要弱。



60

吡嗪双甾体类分子右侧部分称"北片段",左侧为"南片段",这类化合物南北两片段有不对称的,也有对称的。由于其显著抗肿瘤活性,引起了药物化学家的兴趣。目前主要对南北两片段进行结构修饰或进行类似物合成,田伟生等[63]综合了有关文献,总结了初步的构效关系。

由于此类化合物的抗肿瘤活性初露端倪,相信随着工作深入,找到突破口,有望研究开发出新的抗肿瘤药。

第九节　计算机药物设计与结构修饰

通过上面的一些例子,可以了解天然产物结构修饰先合成一系列化合物或类似物,再进行生物活性测

试，搞清结构和活性关系，找出活性优于先导化合物的衍生物或类似物，进一步进行包括多个指标活性和毒性等的综合比较，是否从中挑出候选化合物作为新药开发，这个过程可能成功开发出一个新药，但也可能存在某些不足而失败告终，又得考虑新的修饰路线，因此这样的研究工作量很大，而且带有一定的盲目性。随着分子生物学的发展和人类基因研究的深入，搞清了一些药物靶标——酶、受体的三维结构，为进行合理性药物开发提供的数据几乎可达天文数字。高性能计算机的发展，就有可能对这些数据有效地进行存储、分类、检索和计算，使先导化合物的结构数据与作用靶标、酶、受体等之间的相互作用关系通过数学模式表示出来，再进一步设计改造先导化合物的结构，使其更好地作用于靶标的作用位点上，以期具有更好的活性。现在已经有许多非常成功的药物设计，结构修饰的程序和软件包，如 DOCK、sybyl 等。这种计算机药物辅助设计的方法为天然产物结构修饰提供了一个有力工具，将为新药筛选提高命中率，缩短开发周期，降低成本。

我国从 20 世纪 70 年代开始进行药物定量构效关系(QSAR)研究。20 世纪 80 年代，研究水平有了一定的提高。进入 20 世纪 90 年代后，我国开始进行基于受体三维结构的 CADD 研究。与国外相比，我国在这方面研究起步较迟，但由于各方面研究人员的积极努力，迄今也已取得了一些可喜的成绩。为搜寻药物小分子与受体作用时的活性构象，陈凯先等[64]发展了一种基于受体三维结构搜寻配体活性构像的 BCSPL 方法。用此方法获得了磷酰肽类[D-Ala-Pro-Ala(Oph)$_2$]和三肽类(R-Pro-Arg-H)凝血酶抑制剂的活性构像[64,65]。用分子力学方法计算了这些抑制剂与凝血酶的相互作用，发现活性与相互作用能有良好的相关性，并且直接用 BCSPL 方法对搜寻出来的活性构象及其在凝血酶活性部位的叠合方式进行比较分子力场(CoMFA)[66]研究，得到了预测能力较强的三维定量构效关系模型。这一研究成果不仅证实了配体结合构象搜寻程序(Binding Conformation Searching Progran forbLigand, BCSPL)方法的可靠性，同时为进一步实际新的凝血酶抑制剂提供了线索。在此基础上，陈凯先等设计了四类凝血酶抑制剂，包括肽类和有机分子，合成和药理测试工作正在进行之中。

银杏内酯是治疗心脑血管系统疾病的天然药物。我国研究人员运用量子化学、分子力学计算方法，计算了一系列银杏内酯类化合物的分子结构和电子结构，并计算了溶剂对银杏内酯类似物分子结构和电子结构的影响[65]。由计算结果从分子和电子水平上探究了银杏内酯类化合物在体内的作用机制。在上述理论计算的基础上，运用比较分子力场分析方法，对银杏内酯类化合物进行了三维定量构效关系分析，得到了银杏内酯作用受体三维结构的假想模型(其膜蛋白血小板受体三维结构尚未被测定)，设计了新的银杏内酯类似物。经合成和药理活性测试，证实其中两个类似物活性分别比银杏内酯高 2 倍和 4 倍。

多奈派齐是用 QSAR 方法成功开发的治疗老年痴呆症的药物，商品为 Aricept、Cardozo 等通过对一系列二氢茚酮和苄基哌啶类化合物进行了构象分析，分子形状比较和 QASR 研究，获得了一系列对乙酰胆碱酯酶(AChE)有较高活性的二氢茚酮苄基哌啶类化合物，经过进一步的药理和临床研究，选定多奈派齐进入临床研究，最后获得成功。多奈派齐与 AChE 的复合物结构也已被测定。

通过比较多奈派齐和石杉碱甲与 AChE 的结合方式，陈凯先等发现两者存在不同的结合位点，于是他们设计并合成了能同时利用两者结合的化合物[67]，希望能提高其抑制 AChE 的活性，但最后的药理测试的结果，最好的化合物抑制活性仅为石杉碱甲的 1/850。

因此，通过以上实例可以说明在充分认识计算机在当今药物开发中的重要作用的同时，我们丝毫不能忽视实验的重要性，只有实践才是检验真理的最终标准。计算机辅助药物设计可以缩短新药开发周期，为新药的设计，先导化合物的结构修饰提供参考，减少盲目性。但计算机辅助药物设计本身也存在一个不断发展的过程，尚存在不少问题，如对人体内多种层次的复杂问题，即使经过计算得到的有苗头的化合物，也必须经过生化、药理实验的检测，以及随后的一系列的步骤，才能成为一个真正的药物，药物设计的程序也会越来越完善。

参 考 文 献

[1] China Coorperative Research Group on Qinghaosu and Its Derivatives as Antimalarials. J Traditional Chinese Med, 1982, 2: 45
[2] 朱大元等. 药学学报, 1980, 15: 509
[3] 朱大元等. 中国药理学报, 1983, 4: 194
[4] 刘耕陶等. 药学学报, 1979, 14: 598
[5] 陈延镛等. 中国科学, 1976, 1: 98

[6] 刘耕淘等.药学学报,1983,18:714
[7] 郭瑞云等.药学学报,1999,34:439
[8] 刘嘉森等 化学学报,1986,44:1035
[9] Tang X C. Acta Pharmacol Sin,1996,17:481
[10] 程源深等.新药与临床,1986,5:197
[11] Xu S S et al. Acta Pharmacol Sin,1995,16:21
[12] 朱大元等.中国专利证书第 54041 号,2000317;美国专利号 5,929,084,授权日 1999727;欧洲专利登记号 Ep95941572.0;日本专利登记号 08-520102;国际专利公开号 WO96/20176;国际专利公约 PCT/CN95/00100
[13] 陈维洲等.新药与临床,1982,1:64
[14] Li L Q et al. Scientia Sinica,1979,22:1220
[15] 白东鲁等.专利申请号:99124236.X;公开号:CN1299813A
[16] Gensler W J et al. J Med Chem,1977,20:6345
[17] Mark G S et al. Brit UK Pat Appl GB,1989,2,207,674
[18] 马维勇等.中国医药工业杂志,1997,28:65
[19] 何勇等.药学学报,2001,36:105
[20] 杨维东等.中国医药工业杂志,1996,6:210
[21] Wall M E et al. J Am Chem Soc,1966,88:3888
[22] Wu T S et al. Phytochemistry,1995,39:383
[23] Gunasekera S P et al. J Nat Prod,1979,42:475
[24] Zhou B N et al. J Nat Prod,2000,63:1273
[25] Govindacharim T R et al. Indian J Chem,1972,10:453
[26] Hsiang Y H et al. J Biol Chem,1991,34:98
[27] Hertzberg R P et al. Biochemistry,1989:28:4629
[28] Kingsbury W D et al J Med Chem,1991,34:98
[29] Perez S R et al. J Clin Oncol,1996,14:503
[30] Sawada S et al. Chem Pharm Bull,1991,39:1446
[31] Giovanella B C et al. Science,1989,246,1046
[32] Wani M C et al. J Med Chem,1986,29:2358
[33] 中国科学院药物研究所.中华医学杂志,1978,58:598
[34] 朱关平等.科学通报.1978,23:761
[35] 潘启川等.化学学报,1975,33:71
[36] Martin J Sweeney et al. Cancer Research,1978,38:2886
[37] Charles J Barnett et al. J Med Chem,1978,21:88
[38] Wani M C et al. J Am Chem Soc,1971,93:2359
[39] Schiff P B et al. Nature,1979,277:665
[40] Manatal L et al. Tetrahedron,1989,45:4177
[41] Gueritte-Voegelein F et al. J Med Chem,1991,34:992
[42] Fabre J L et al. Drugs of the Future,1995,20:464
[43] 王广生.药学通报,1980,15:119
[44] 吴克美等.药学学报,1984,19:513
[45] 吴克美等.药学学报,1985,20:821
[46] 万景华等.中国药理学报,1981,2:241
[47] 邹继存等.药学学报,1985,20:45
[48] Fujita T et al. J Antiboit,1994,47:108
[49] Kiuchi M et al. J Med Chem,2000,43:2946
[50] 周光邻译.国外医药抗生素分册,1992,13:412
[51] Lazarevski T et al. J Pharm Sci,1978,67:1031
[52] Gase J C et al. J Antibiot,1991,44:313
[53] Young R A et al. Drugs,1989,37:8
[54] 源耕平等. Jpa J Antibiot,1991,44:494
[55] 马舒冰.国外医药抗生素分册,1996,17:33
[56] 王金生.医药情报,1993,(6):12
[57] Djiokic S et al. J Antibiot,1987,40:1006

[58] 田德光等.国外医药合成药、生化药、制剂分册,1994,15:84
[59] US 4048306,1997(CA 1997,106992r)
[60] Villa P et al. J Antibiot,1986,39:46
[61] Pettit G R et al J AmChem Soc,1988,110:2006
[62] Fukuzawa S et al. J Org Chem,1994,59:6164
[63] 田伟生等.药学学报,1999,34:552
[64] Jiang H L et al. Chung Kuo Yao Li Hsueh Pao,1997,18:36
[65] Jiang H L et al. J Med Chem,1997,40:30
[66] Cramer Ⅲ D R et al. J Am Chem Soc,1988,110:5959
[67] Chen J Z et al. Bioorg Med Chem Lett,1998,28:1291

（朱大元）

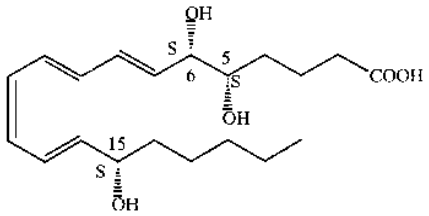
第二十二章　天然产物的化学合成

复杂天然产物的全合成一直占据着有机化学研究的中心位置，这不仅仅是因为自然界不断地使我们看到一些令人吃惊的、在合成上非常有挑战性的分子，以吸引有机合成化学家去合成，更重要的是由于通过对复杂化合物进行的化学合成会带来有机化学领域和有关天然产物的利用的重大发展。

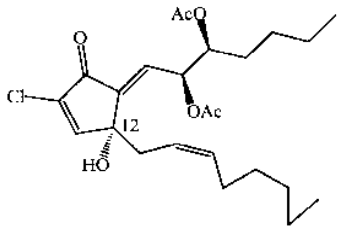
日本名古屋大学后藤俊夫(T. Goto)则认为天然产物合成具有以下目的：① 确定结构；② 提供样品(天然来源有限时)；③ 合成衍生物；④ 发展新反应和新的理论。

在波谱技术和 X 射线单晶衍射广泛应用以前，合成曾经是确定天然产物分子结构的权威手段。虽然现在全合成确定结构的作用已经下降了很多，但是有机化学家还是常常会面对一些极微量的非晶体天然产物，由于波谱技术只能确定大致的结构，因而其细节只能由全合成来确定。

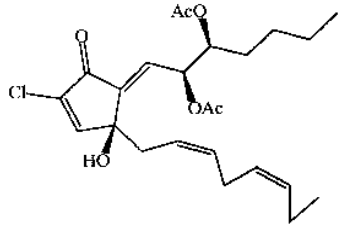
如酯氧三醇 A(lipoxin A) 的 5,6 位构型是全合成四个异构体后，经比较确定的[1,2]，结构如下：



海洋生物中的抗白血病二十碳酸 PUG 是通过全合成证明 12-OH 的构型是 α 而非 β[3~5]：



PUG4



12-epi-PUG3

有时天然产物的样品太少时，无法对其性质进行进一步的研究，或由于某种产物有巨大的市场需求，靠天然提取无法满足需要时，就要用合成的手段来提供产品，这种情况发展到极致就是用合成的方法工业生产某种天然产物。在天然产物中，很少有以化学方法进行全合成生产的，其中一个比较特殊的例子是薄荷醇。Takasago 公司用他们的不对称合成方法以年产 1500t 的规模进行生产[6~9]。

但是在大多数情况下，科学家对天然产物的合成不是以以上两点为目的的。对一些生物活性很好的天然产物，人们往往在合成目标分子的同时，还要合成它们的衍生物，从而对其生物活性的构效关系有一个深入的了解，发展出更有价值的化合物来。很多药物都是从天然产物衍生而来的。

在绝大多数情况下，对天然产物的合成表现为一种对合成化学本身的探索。因为天然产物的复杂性对合成化学家来说本身就意味着一种挑战，对复杂天然产物进行合成是合成艺术的体现。在某种意义上来说合成化学的发展历史就是天然产物合成的历史。正是由于对天然产物的合成的不懈追求，化学家在合成中遇到了各种看似难以克服的困难，为了解决这些困难，发展出了各种新颖的方法，不断地推动合成化学向前发展。

由于天然产物合成的内容浩如烟海，我们不可能在一章中将其全面的介绍，只能是管中窥豹见其一斑而已。下面按照天然产物的分类做简要的介绍。

第一节 生 物 碱

生物碱一般是指植物中的含氮有机化合物(蛋白质、肽类、氨基酸及维生素除外),是天然产物中最多的一类。由于其结构千差万别,而且生物碱往往具有很好的生物活性,因而吸引了大量的合成化学家对其进行研究。下面介绍几个生物碱合成的重要例子。

一、吗 啡

吗啡(morphine)是发现较早的生物碱,自从 Gate 第一个合成吗啡以来,对吗啡的合成研究就没有中断过。进入 20 世纪 90 年代以来,有不少全合成和中继合成发表[10~13]。其中以 Overman 的合成最有代表性。

Overman 从 2-烯丙基环己酮出发,经不对称还原,再巧妙地做成烯丙基硅烷,合成了吗啡的两个对映体。将烯丙基硅烷与已有 A 环的醛用碘化锌处理,烯丙基以很高的非对映选择性俘获了中间体亚胺离子(大于 20:1)。Heck 反应用于构建连着芳香基的季碳键。再选择性地脱去苄基保护后,将环已烯环氧化,最后形成二氢呋喃环,如图 22-1 所示。

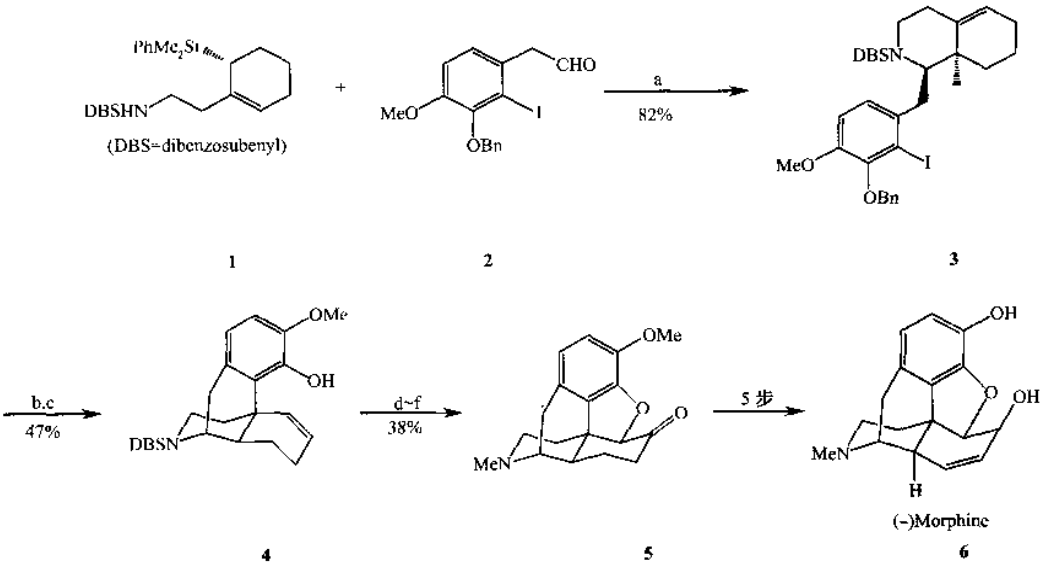


图 22-1

a. ZnI_2; b. $Pd(O_2CCF_3)_2(PPh_3)_2$, PMP; c. $BF_3 \cdot OEt_2$, EtSH; d. 3,5-dinitroperoxybenzoic acid, CSA; e. TPAP, NMO; f. H_2, $Pd(OH)_2$, HCHO

二、马 钱 子 碱

马钱子碱(strychnine)是第一个被人们以纯品形式制备得到的生物碱,是在有机化学和天然产物史上具有特殊意义的分子,马钱子碱的化学合成工作曾在 20 世纪 50 年代由于 Woodward 等[14]的合成成功而达到高潮。这样一个含有七个环,六个手性中心的化合物能在当时缺乏有力的结构分析手段的情况下被合成,堪称经典之作。

在中断了 40 年之后,20 世纪 90 年代科学家重新对马钱子碱的合成引起了兴趣。20 世纪 90 年代已有六个全合成的报道[15~21]。其中最突出的例子是 Rawal 的非常简洁的外消旋体合成和 Overman 的对映选择性合成。在 Ramal 的路线中成功地运用了分子内 Diels-Alder 反应和分子内 Heck 反应,使路线显得十分干脆利落(图 22-2)。

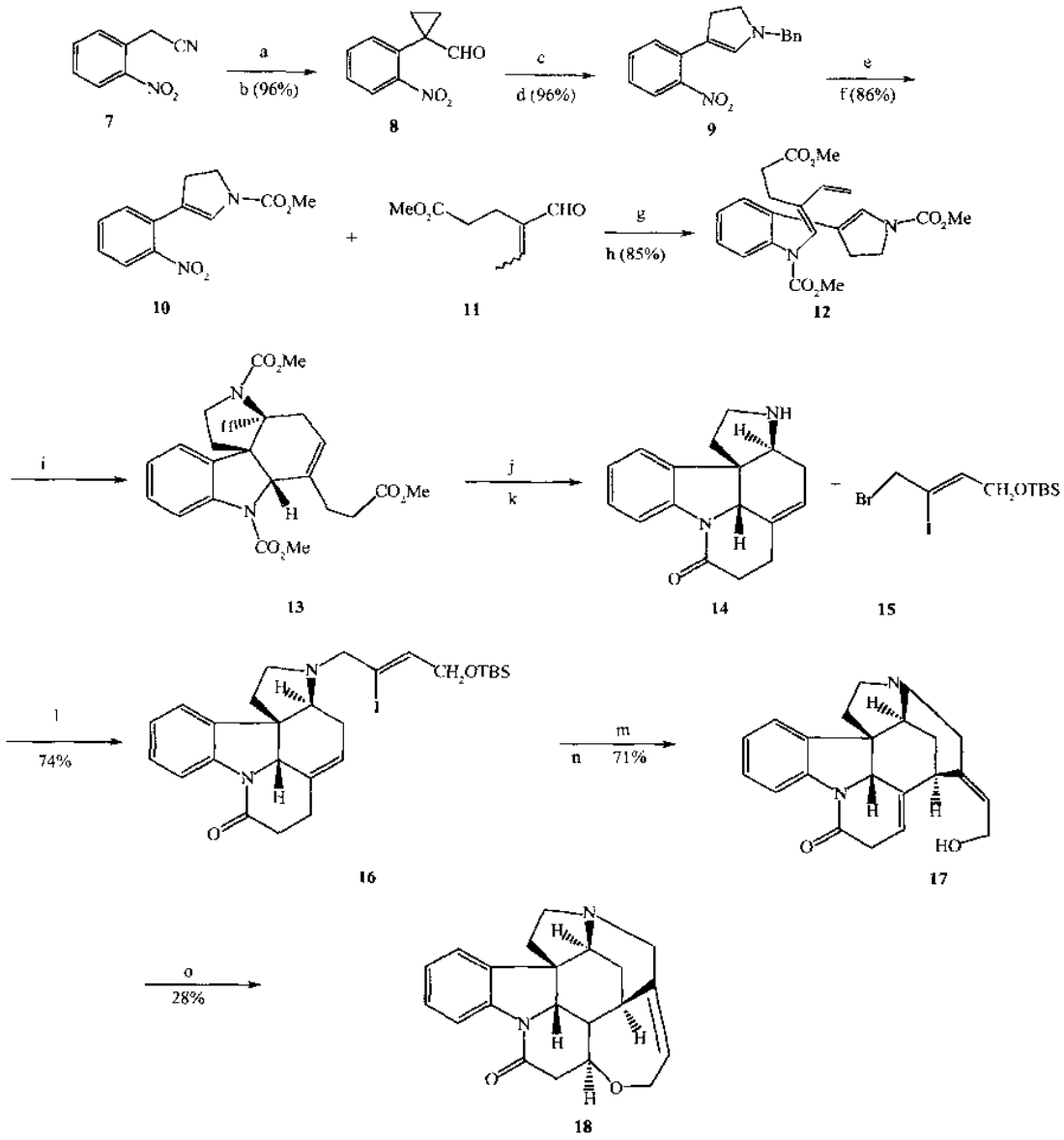


图 22-2

a. $Br(CH_2)_2Br$, 50% NaOH; b. DIBAL-H; c. $BnNH_2$, Et_2O; d. TMSCl, NaI, DMF; e. $ClCO_2Me$, acetone; f. 10% Pd-C, HCO_2NH_4; g. 23℃; h. $ClCO_2Me$, $PhNEt_2$; i. C_6H_6, 185℃; j. TMSI, $CHCl_3$; k. MeOH, 65℃; l. DMF, acetone, K_2CO_3; m. $Pd(OAc)_2$, BuNCl, DMF, K_2CO_3, 70℃; n. 2 mol/L HCl, THF; o. KOH, EtOH, 85℃

前体**12** 封管加热进行分子内的 Diels-Alder 反应以 99% 的产率获得 **13**，然后分子内两步形成酰胺以构成 C 环，**14** 在温和条件下和 **15** 发生 N 烷基化得到 **16**。接下来分子内 Heck 反应非对应选择性地形成 F 环，D 环上的双键转移到 C 环上，脱去羟基保护，环化得外消旋的马钱子碱，总收率为 10%，这是目前最好的结果。

三、喜　树　碱

喜树碱(camptothecine)有很好的抗肿瘤活性，关于其合成的报道有近 21 个，其中最有代表性的是 20 世纪 70 年代蔡俊超等的外消旋喜树碱路线[22]和 20 世纪 90 年代 Comins 的对映选择性合成路线[23,24]。

蔡俊超等的合成路线如图 22-3 所示.

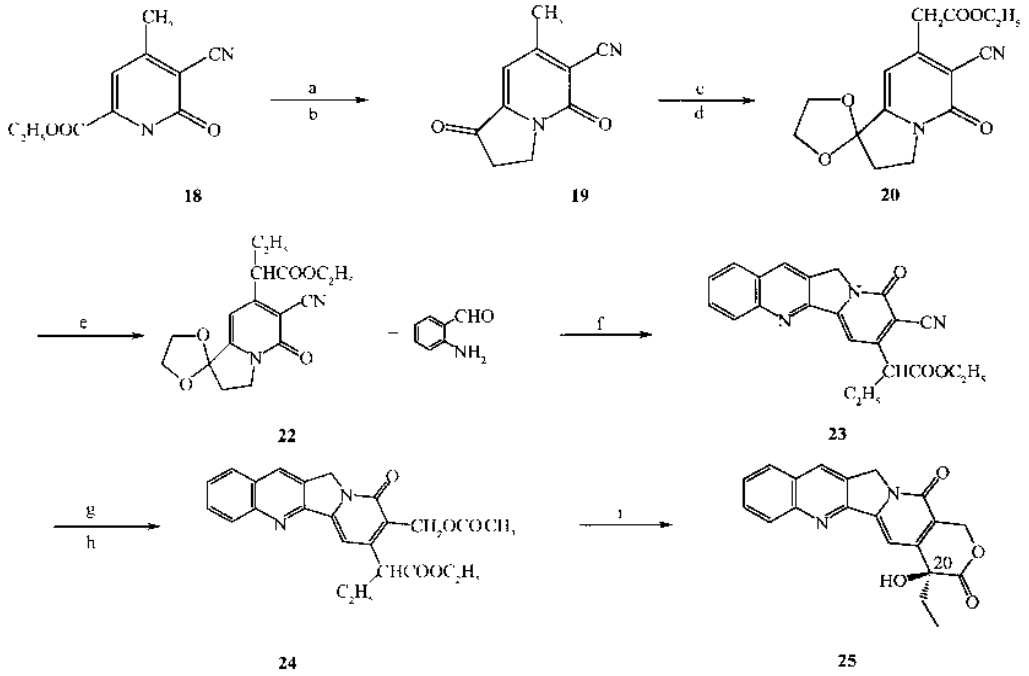


图 22-3

a. K_2CO_3, DMF, methyl acrylate; b. HCl, HAc; c. $(CH_2OH)_2$; d. $(EtO)_2CO$, NaH, $PhCH_3$;
e. C_2H_5I, NaH, DMF; f. HCl-HAc; g. Ac_2O-HAc, $[H]$; h. $NaNO_2$; i. $CuCl_2$, DMF, $[O]$

在以上合成路线中，B、C、D 环的形成都很简洁，合成的中心工作是围绕 E 环而展开的，其中形成**22** 是该路线的关键所在，这一步使得 20 位碳原子活化，使后面的反应能顺利地进行，从而形成 20 位的季碳。这条路线的另一个特点是所用的试剂都很简单，合成中的分离方法主要是重结晶，几乎不用柱层析，其总产率高达 18%。

在 20 世纪 90 年代初，Tagawa 等[25]将以上合成路线进行改进，使其成为一条对映选择性合成的路线，如图 22-4 所示。在喜树碱的衍生物合成研究中，其骨架构建一般都以此路线进行。

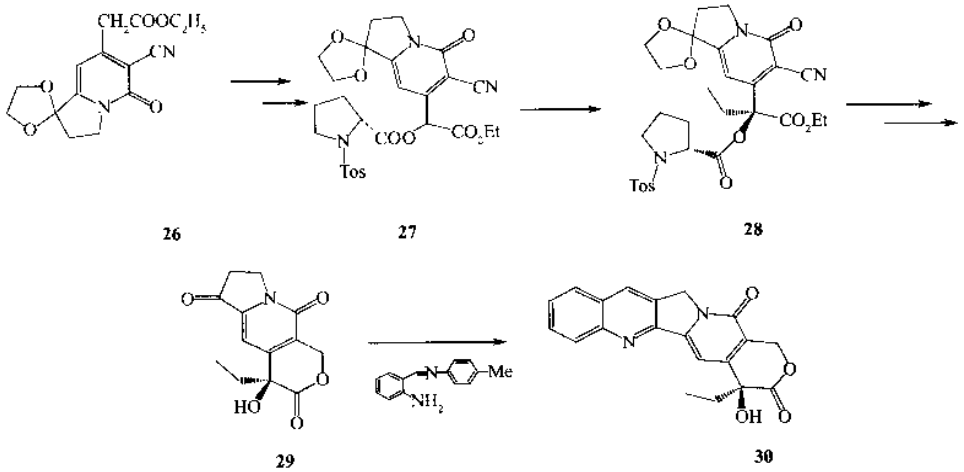


图 22-4

Comins 用分子内 Heck 反应构建 C 环，提供了一条很简洁的路线，如图 22-5 所示。

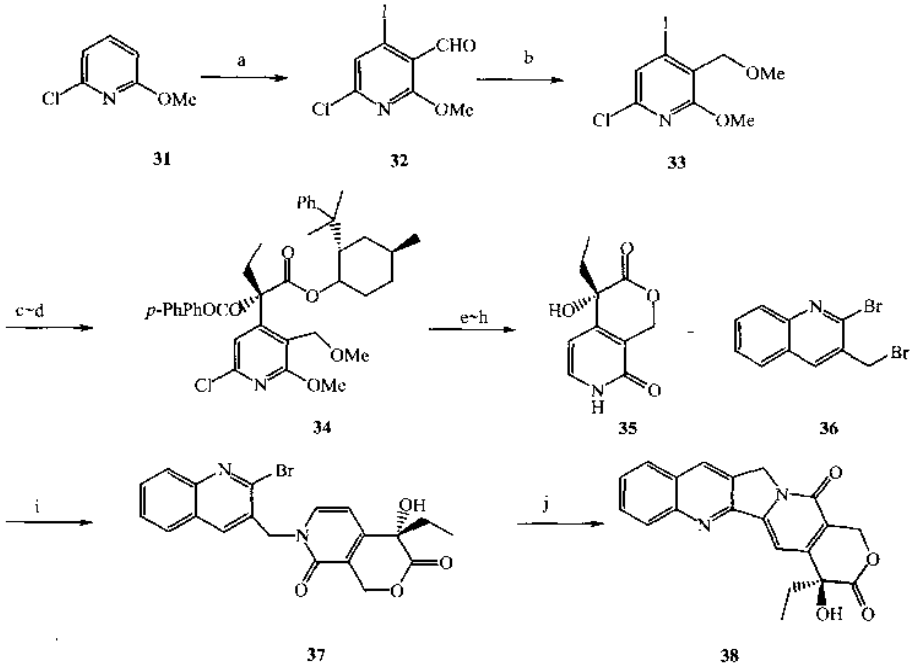


图 22-5

a.① *t*-BuLi,THF, −78℃, 1h;②$(CH_3)_2NCH_2CH_2N(CH_3)CHO$;③ *n*-BuLi, −23℃, 2h; ④$I_2$(78%);
b. CH_3OH, EtSiH, TFA (98%);c. *n*-BuLi, THF, −78℃ then α-keto-8-phenylmenthyl Butyrate;
d. *p*-PhPhCOCl (60% from **33**); e.2NnaOH, EtOH (76%);f. TMSCl, NaI, CH_3CN, Dabco, reflux;
g.6 mol/L HCl, 100℃ (77%, two steps);h.H_2, Pd-C; i.*t*-BuOK, DME, reflux (87%);
j.$Pd(OAc)_2$, Bu_4NBr, KOAc, DMF, 90℃, 3h (59%)

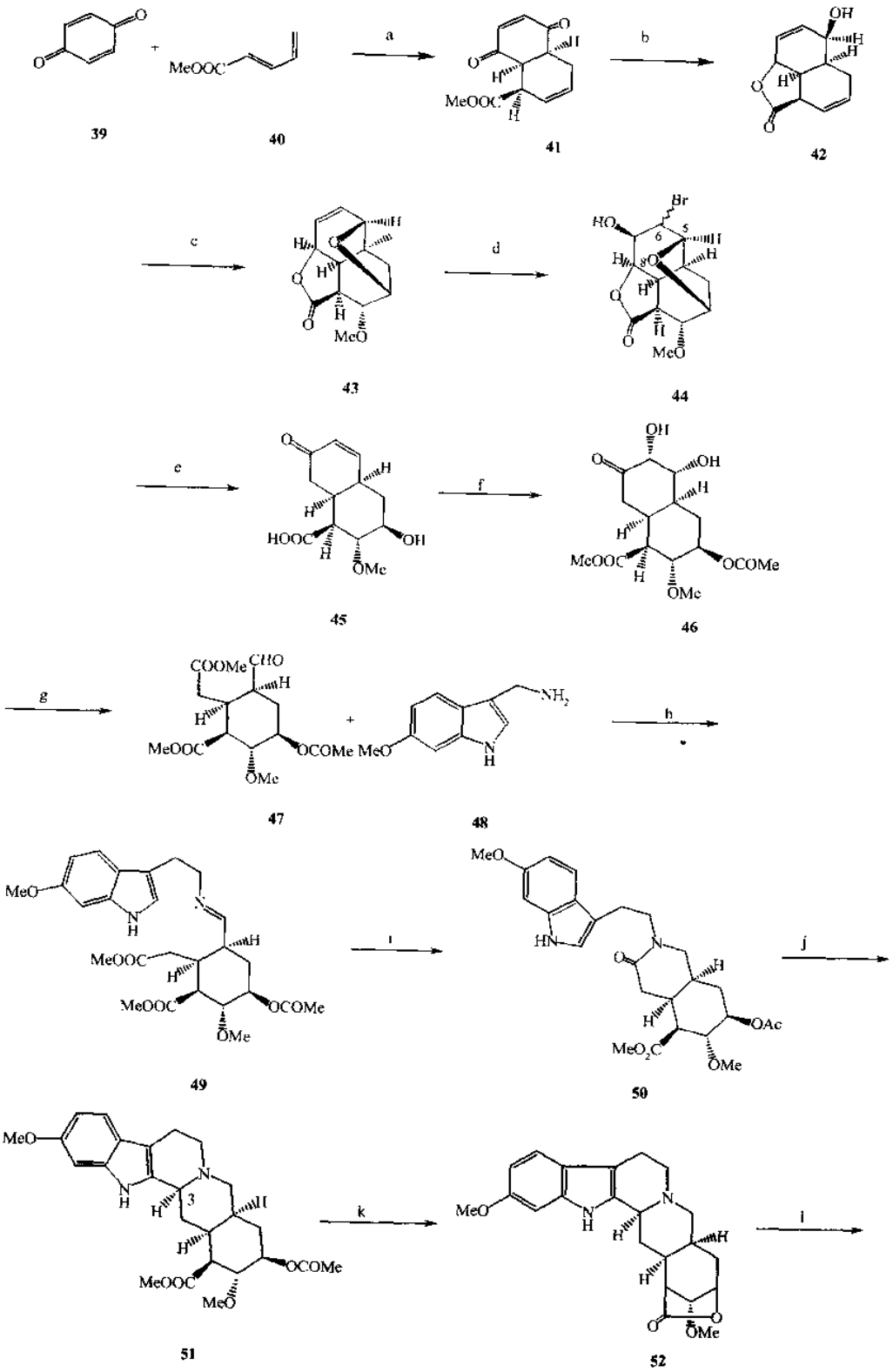
他的合成从一个两步、一锅炒的反应开始:2-氯-6-甲氧基吡啶用特丁基锂处理，芳香锂中间体用甲酰胺俘获,再直接加入 1 mol/L 丁基锂产生负离子,用碘淬灭,得到醛**32**。用 Et_3SH/TFA 在甲醇中还原**32** 得到甲醚 **33**。经锂卤交换后加入 α-丁酮酸(8-苯基薄荷基)酯,产生的醇负离子中间体用对苯基苯甲酰氯反应，得酯 **34**,经重结晶得光学纯的 **34**。然后经三步反应得 **35**,**35** 于 **36** 偶联后,便可以用于分之内 Heck 反应,最后得光学纯的喜树碱。

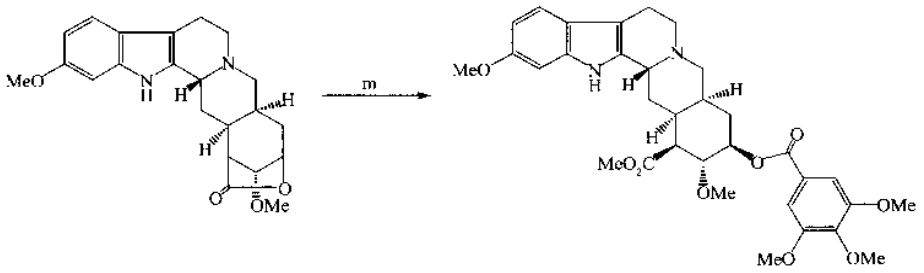
四、利　血　平

利血平(reserpine)的合成是 Woodward 的代表作之一,他的合成路线[26]如图 22-6 所示。

E 环是利血平合成的难点,含有五个手性中心。Woodward 用 Diels-Alder 反应,以底物控制的方法将其分别建立起来。由子立体位阻的影响,**42** 上的双键可以选择性地溴化,同时发生分子内的醚化反应。再用甲醇钠处理,甲氧基取代了溴原子而得**43**,这样,E 环上的手性中心就都建立起来了。其方法之简单和巧妙令人赞叹。再利用 NBS 和水对双键的加成得到**44**,将 **44** 用铬酐氧化,接着用锌和乙酸处理,不仅使成 C-8 位的碳氧键被还原而在 C-1 位形成仅有的羰基,而且使 C-6 位的碳溴键和 C-5 位的 3,5 醚桥发生消除,形成双键,得到**45**。将 **45** 经必要的保护和两步氧化给出 **47**。**47** 是利血平合成的关键中间体。

将**47** 与 **48** 偶联,还原,再用 $POCl_3$ 处理环化,再还原给出化合物**51**。**51** 和利血平已经很接近了,但是,C-3 的手性有问题。通过转化成内酯,用新戊酸在二甲苯中回流,顺利地实现了构型的反转,后经开环,酯化得外消旋的利血平。经拆分可得到光学纯的产品。


a
b
c
d
e
f
g
h
i
j
k
l
MeOOC
MeO
HOOC
OMe
OCOMe
OAc
COOMe
CHO
NH2
Br
HO
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52



53　54

图 22-6

a. PhH, reflux; b. Al(Oi-Pr)$_3$, *i*-PrOH; c. ① Br_2; ② NaOH, MeOH; d. NBS/aq·H_2SO_4, 30℃; e. ① CrO_3/HOAc ② Zn/HOAc; f. ① CH_2N_2; ② Ac_2O; ③ OsO_4, $NaClO_3$, H_2O; g. ① HIO_4; ② CH_2N_2; h. PhH; i. $NaBH_4$/MeOH; j. ① $POCl_3$; ② aq·$NaBH_4$; k. ① KOH/MeOH; ② HCl; ③ DCC/Py; l. *t*-$BuCO_2H$, xylenes; m. ① NaOMe, MeOH, reflux; ② 3,4,5-$(MeO)_3C_6H_2COCl$, pyridine

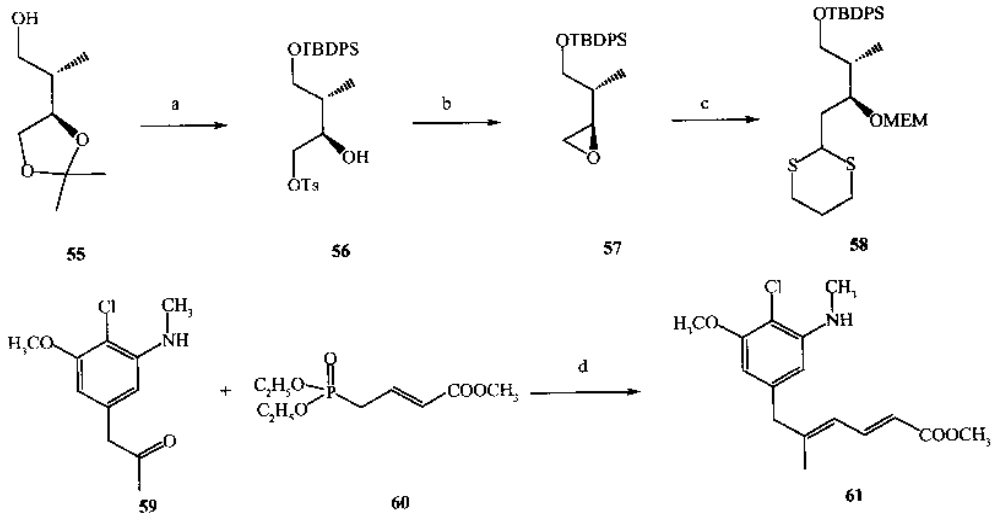
五、美　登　素

美登素(maytansine)是一类大环内酰胺生物碱,有良好的抗癌活性,自 1980 年 Corey 等[27]首先完成其全合成以来,已有好几个小组发表了他们的合成工作,这里介绍我国顾学钦、潘百川、高怡生等的合成工作[28]。

以(－)-(2*R*,3*R*)-2-甲基-3-羟基丁二酸为原料,经酯化,LAH 还原,用丙酮保护得醇**55**,**55** 经以上两步反应做成环氧化合物 **57**,将其与硫缩醛反应,增长一个碳得 **58**。由于硫缩醛是羰基的偶极反转形式,为以后的片段连接做好了准备。

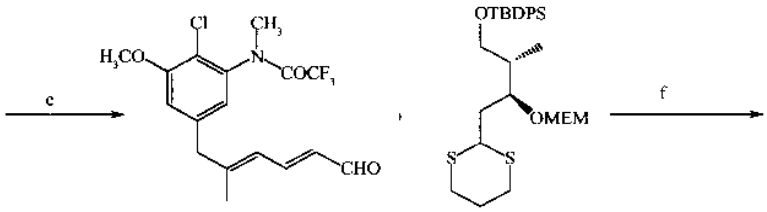
将**59** 与 **60** 在 LDA 作用下进行 Wittig 反应,得 **61**。由于目标化合物含有多个双键,其开链前体的合成时使用 Wittig 反应进行片段连接是很好的方法。**61** 经还原,保护,氧化后做成醛,将硫缩醛 **58** 与其反应得 **64** 与 **65**。生成的差向异构体经分离后,S 构型的产物经氧化,Noyori 还原后转化成 *R* 构型。将**65** 甲基化,脱保护,氧化成醛,再次使用 Wittig-Horner 反应进行连接,给出化合物**69**。

将**69** 用 $NaBH_4$ 还原得一对异构体,分离出所需的**71**,将另一异构体 **70** 再氧化成原料,可重新用于还原。再经 TBS 保护羟基,水解酯基,即可以 Mukaiyama 酰胺法[29]成环生成**73** 接下来关键是选择性地脱保护基和引入侧链。**73** 用 2-氯-1,3,2-二硫硼杂烷处理脱去 C-7 位的 MEM 保护成**74**,继用氯甲酸对硝基苯甲酯处理得 **75**,再参照 Corey 的方法合成美登醇,引入侧链后成美登素,如图 22-7 所示。

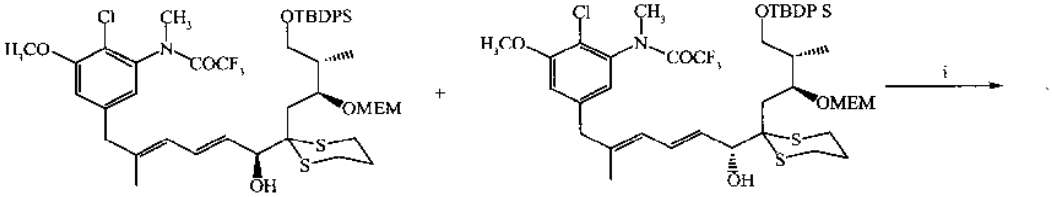


55　56　57　58

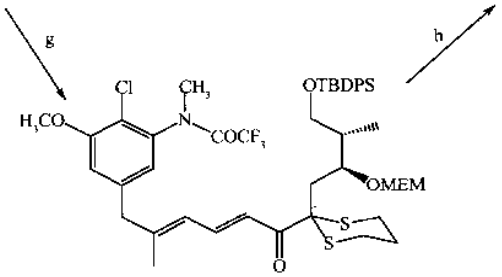
59　60　61



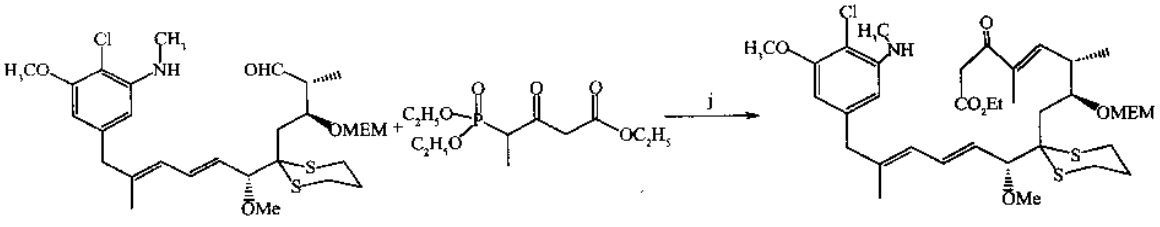
62 63



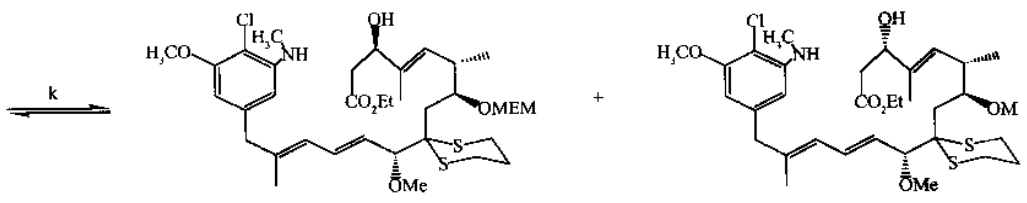
64 65



66



67 68 69



70 71

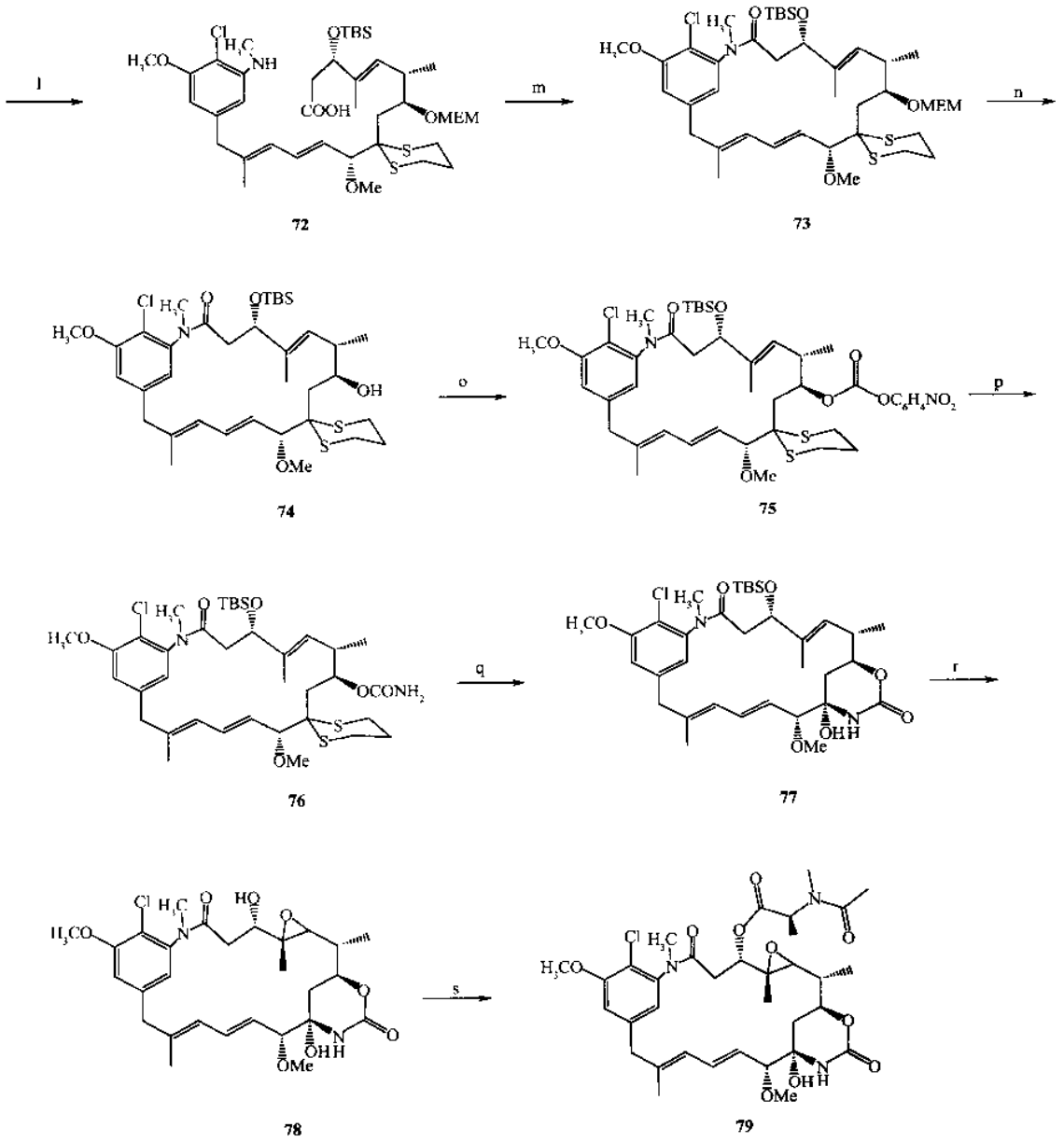


图 22-7

a.①TBDPSCl, triethylamine, DMAP, CH_2Cl_2;② 75% HAc;③ TsCl, pyridine; b.NaH, THF; c.① LDA, dithiane, THF;② MEMCl, ethyl diisopropylamine; d.LDA, THF; e.①LAH, $AlCl_3$;②TFAA, Py; ③ Ag_2CO_3, PhH; f.BuLi, THF; g. MnO_2; h. (R)-BANIL-LAH-EtOH; i.① CH_2N_2; ②TBAF, THF;③[O]; j.LDA THF; k.$NaBH_4$; l.① TBSCl, imidazol;② LiOH, DME; m.Mukaiyama's condition; n.2-chloro-1,3,2-dithiaborolane, CH_2Cl_2, −78℃; o. *p*-$NO_2C_6H_4OCOCl$, Pyr.; p.NH_3/CH_3OH; q. $HgCl_2/CaCO_3$, ethyl diisopropylamine; r.① HF/H_2O; ②VO(acetylacetone)$_2$, *t*-BuOOH; s. *N*-acetyl-*N*-methyl-L-alanine, DCC, $ZnCl_2$

第二节　萜　　类

一、单　　萜

单萜化合物一般是指其基本骨架可以看做由两个异戊二烯或异戊烷头尾相接而成的一类化合物，其骨

架较小，在合成中要解决的中心问题是手性中心的控制问题。

薄荷醇(menthol)是一个很重要的单萜，其全世界的工业产量每年达 3500 t，其中 30%的产量来自日本的 Takasago 公司，因为他们发明了一种光学纯薄荷醇的工业合成方法[30]，其工艺如图 22-8 所示。

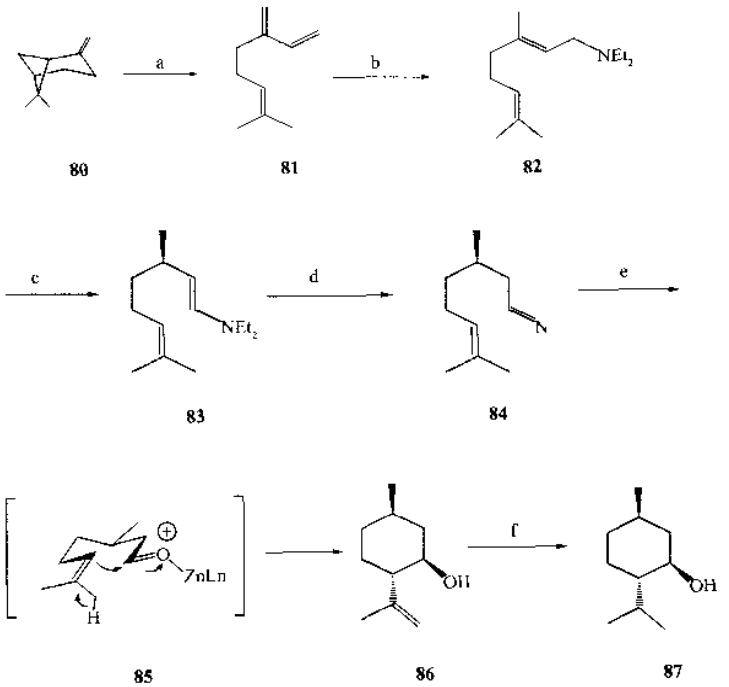


图 22-8

a. thermal cracking; b. *n*-BuLi (cat.), Et_2NH; c. $[Rh^+(S)\text{-BINAP}](COD)ClO_4$ (cat.), 100℃; d. aq. H_2SO_4; e. $ZnBr_2$; f. H_2, Ni

以较便宜的 β-松油二环烯为原料，经热裂解成月桂烯，经丁基锂催化的调聚反应立体选择性地接上二乙胺基。其中最重要的一步是$[Rh^+(S)\text{-BINAP}](COD)ClO_4$催化下的不对称异构化反应，形成手性甲基，其 ee 值大于 98%。这个手性甲基还被用于以后的反应中控制另两个手性中心的形成。将**83** 水解，得 R-香茅醛，其 ee 值高达 98%以上，比自然界中提取的还要高很多，天然提取的香茅醛 ee 值一般不超过 80%。将 *R*-香茅醛用溴化锌处理，底物经过椅式过渡态形成异蒲勒醇**86**，经过低温结晶可到接近 100%光学纯的产品。再将异蒲勒醇催化氢化即得(－)-薄荷醇。

二、倍 半 萜

倍半萜的基本骨架可以看作由三个异戊二烯构成的。倍半萜广泛存在于植物、微生物、海洋生物及某些昆虫中，其中很多具有重要的生物功能和生理活性。青蒿素(artemisinin)是一个很重要的倍半萜，它是我国发现的抗疟新药，具有速效和低毒的特点。在疟原虫对奎宁类抗疟药有耐药性时，青蒿素就显得更为重要。关于青蒿素的合成已经有不少报道，这里介绍许杏祥等[31]的合成工作。

将**88** 用已知途径转化为双羟基化合物 **89**，选择性地将伯羟基苄基化，随后用 Jones 试剂氧化给出酮 **90**。将酮用 LDA 动力学去质子，所得烯醇与硅基丁烯酮反应，再除去三甲基硅基后得酮 **91**。用 $Ba(OH)_2$ 环化，而后酸化形成 α,β-不饱和酮**92**。将 **92** 在 $NaBH_4$-Py 中还原，再用 Jones 试剂氧化生成酮**93**。**93** 与 MeMgI 反应，再用对甲苯磺酸消除羟基生成**94** 和它的 Δ^3 异构体，比例约为 1∶1。用快速柱层析分离得**94**。

将**94** 还原、Jones 氧化、酯化后生成青蒿酸甲酯**95**，臭氧化得 **96**，以选择性地硫缩酮保护成 **97**。**97** 用原甲酸三甲酯处理后生成烯醇甲醚，用 $HgCl_2$-$CaCO_3$ 脱去硫缩酮保护生成关键中间体**98**。将 **98** 的甲醇溶液在

氧气和玫瑰红存在下氧化产生过氧键得**99**,**99**用70%的$HClO_4$处理得青蒿素**100**,如图22-9。

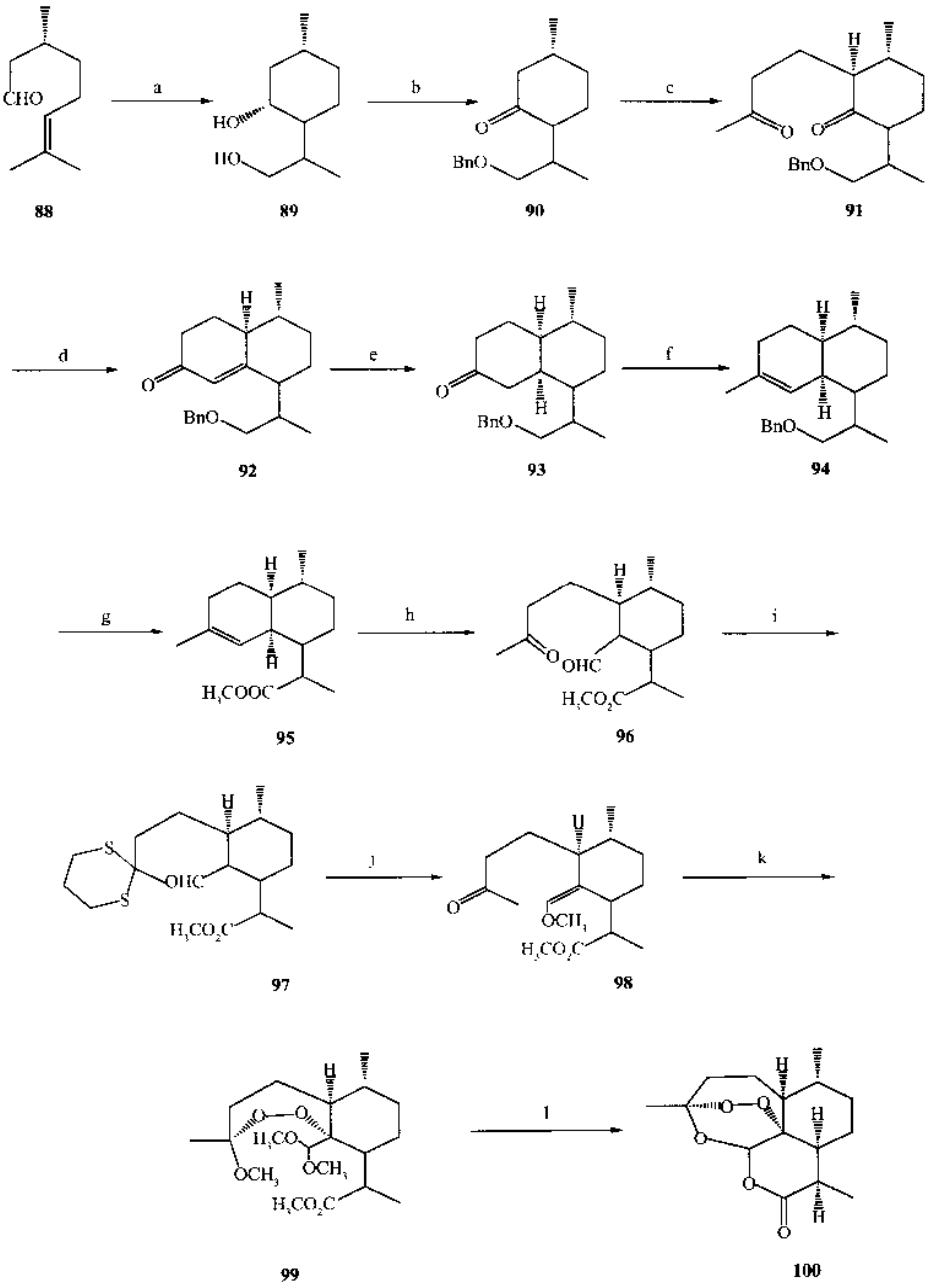


图22-9

a.①$ZnBr_2$;②B_2H_6;H_2O_2,NaOH;b.①$PhCH_2Cl$-NaH;②Jones oxidation;c. LDA,$CH_2{=}C(Me_3Si)COCH_3$;d.①$Ba(OH)_2{\cdot}8H_2O$;②$(COOH)_2$;e.① $NaBH_4$;②Jones oxidation;f.① MeMgI;②*p*-TsOH;g.①Na- Liq.NH_3;②Jones oxidation;h.O_3,MeS_2;i.$HS(CH_2)_3SH$-$BF_3{\cdot}Et_2O$;j.① $HC(OMe)_3$, *p*-TsOH;Xylene;② $HgCl_2$-$CaCO_3$-aq.CH_3CN;k.O_2, Rose Bengal, $h\nu$;l. $HClO_4$

三、二　萜

丹参酮类属于二萜醌类化合物,药理实验证明有良好的生物活性,由于其骨架比较一致,可以用通用的

方法合成它们。其中用 Diels-Alder 方法构建骨架被认为是最好的方法。Lee[32]把超声波促进反应的方法应用于丹参酮的合成，得到了良好的结果。他的合成路线以丹参酮ⅡA(tanshinone ⅡA)为例如图 22-10 所示。

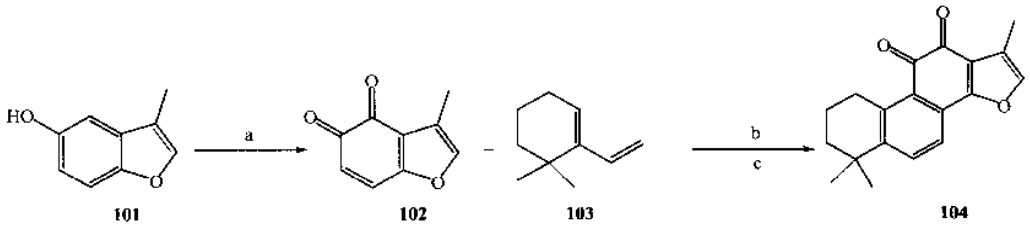


图 22-10

a. Fremy's Salt; b. Ultrasound; c. DDQ, benzene, reflux

邻醌 **103** 比较不稳定，用加热条件进行 Diels-Alder 反应会影响收率，而且在加热条件下其立体选择性较差，会得到接近 1∶1 的异构体，而在超声波条件下，由于条件温和产率高，生产的异构体少于 5%。

雷公藤内酯(triptolide)表现出许多良好的生物活性，自从 Berchtold[33]完成它的全合成以来，有关它和它的衍生物合成有许多报道发表，杨丹等利用最近发展的三氟醋酸铜催化的自由基成环反应，立体选择性地实现了它的合成[34]。

在合成雷公藤内酯时，他们借鉴了 Tamedem 等的合成方法[35]，把合成的重点放在立体选择性合成中间体(+)-**112** 上。将 **105** 用 MOMCl 保护，通过 *n*-BnLi，MeI 接上甲基，再用 *s*-BuLi 在 THF 中生成负离子，

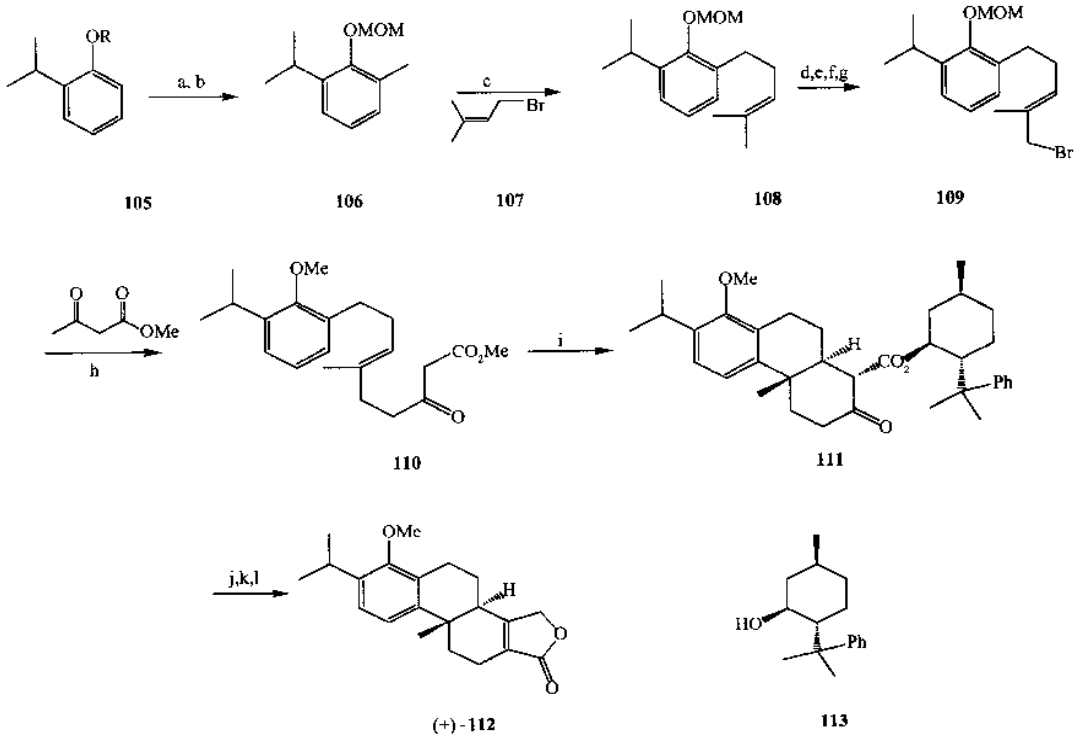


图 22-11

a. MOOMCl, NaH, THF, 65℃, 2.5h, 99%; b. *n*-BuLi, THF, −40～20℃, 2h, then −78℃, MeI, 1h, 98%; c. *s*-BuLi, THF, −78℃, **107**, 1h, 98%; d. TMSCl, $LiBF_4$, CH_3CN, −10～25℃, 4h, 97%; e. Me_2SO_4, K_2CO_3, 丙酮, reflux, 2.5h, 100%; f. SeO_2, *t*-BuOOH, CH_2Cl_2, 0℃, 8h, then $NaBH_4$, MeOH, 73%; g. MsCl, Et_3N, CH_2Cl_2, −40～−20℃, 1h, then LiBr, THF, −20～25℃, 2h, 96%; h. NaH, *n*-BuLi, THF, 0℃, 1h, 85%; i. DMAP, toluem; j. $Mn(OAC)_3 \cdot 2H_2O$ $Yb(OTf)_3$; k. kHMDS, $PhNTf_2$; l. ①D_2 BAL-H ②$Pd(PPh_3)_4$

用**107** 处理生产烯 **108**，但是在下一步氧化时产率不佳，更替保护基后可以以 73% 的产率氧化，而后溴化成 **109**，可用双离子化的乙酰乙酸甲酯取代溴生产前体 **110**。将 **110** 在甲苯中用 DMAP 催化酯交换接上手性辅剂**113**，在 $Mn(OAc)_3$ 和 $Yb(OTf)_3$ 的催化下，生成以 73% 的产率和 38∶1 的 de 值得到所希望的三元环化合物**111**。Crisp 方法[36]用来将 **111** 构建成 α,β 不饱和酮(+)-**112**，先三氟磺酸化，DIBAL 还原，而后以 $Pd(PPh_3)_4$ 催化下生成(+)-**112**，如图 22-11 所示。

在合成完(+)-**112** 后，将其用 CrO_3 氧化，脱保护，$NaBH_4$ 还原，以 $NaIO_4$ 高产率地氧化生成(−)-**114**，形成第一个环氧，三氟丙酮和 Oxone 的混合物氧化出第二个环氧，$H_2O_2/NaOH$ 氧化出第三个环氧，最后用 $NaBH_4$ 还原得到雷公藤内酯，如图 22-12 所示。

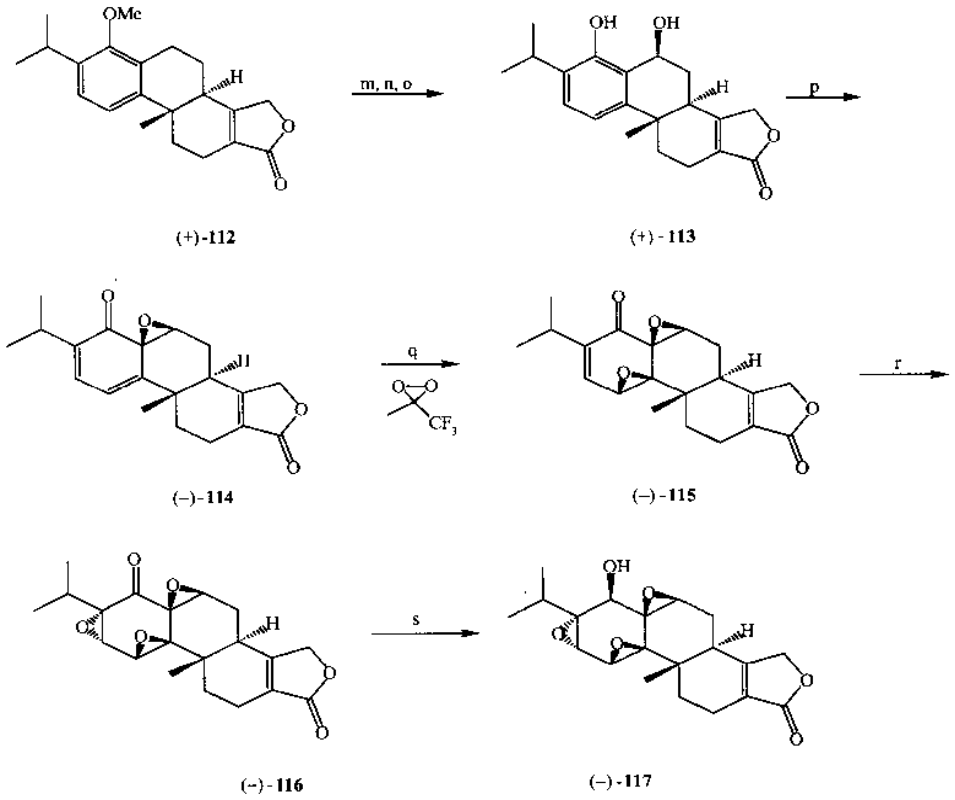
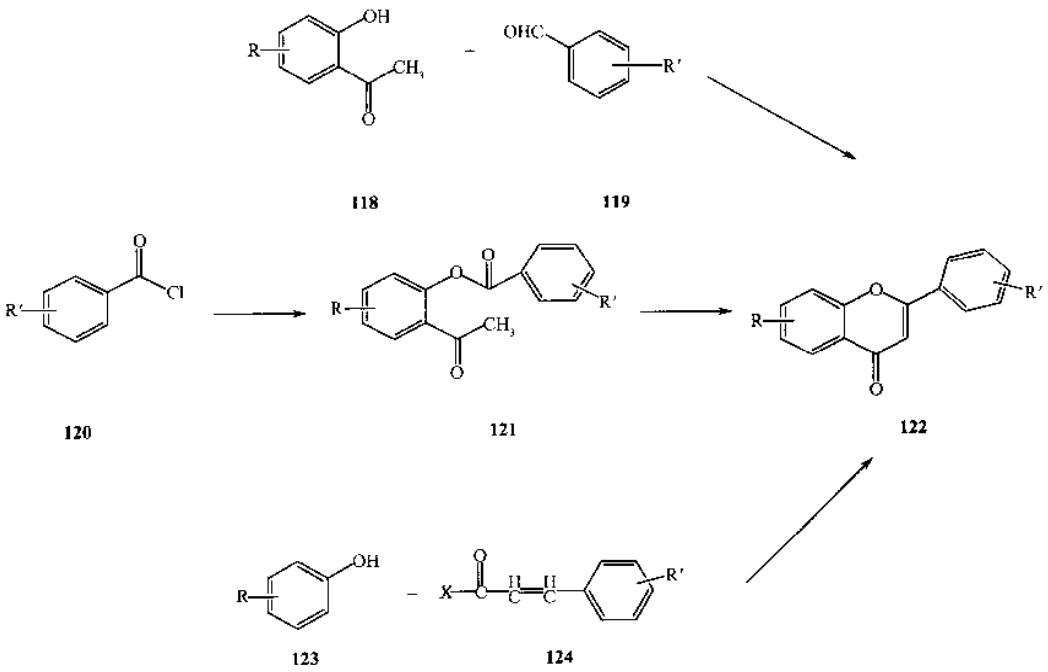


图 22-12

m. CrO_3 室温 45%；n. BBr_3，CH_2Cl_2，−78℃ 至室温，99%；o. $NaBH_4$，CH_3OH，0℃，2h，99%；p. $NaIO_4$，MeOH/H_2O，0～25℃，1h，96%；q. CF_3COCH_3，Oxone，$NaHCO_3$，CH_3CN/H_2O，Na_2(EDTA)，25℃，4h，70%，r. H_2O_2，NaOH，MeOH，25℃，3h，96%；s. $Eu(FOD)_3$，CH_3OH，49%

第三节　黄　酮　体

黄酮体的母核基本上可由下述两种途径合成：①一个 C_6C_2 单元与一个 C_6C_1 单元缩合，如 2-羟基苯乙酮衍生物**118** 与苯甲醛衍生物 **119** 缩合或 2-羟基苯乙酮衍生物**118** 与苯甲酰氯衍生物 **120** 生成酯 **121** 后再分子内形成黄酮体 C_6-C_3-C_6 母核**116**；② 一个 C_6C_3 单元与 C_6 单元缩合，如肉桂酰氯衍生物**124** 与苯酚衍生物 **123** 酰化，也可生成黄酮体母核 **122**。此外，还有很多类似的合成途径。由于 A 环、B 环、C 环的取代基对各种具体化合物的合成有一定影响，在这些合成路线的基础上，出现了许多改良方法。这里将以典型化合物为例，阐述黄酮的一般合成路线：



一、查尔酮类和双氢黄酮类的合成

查尔酮可作为合成各类黄酮体的中间体，因此，查尔酮的合成是合成黄酮体的重要环节。上述合成黄酮体的两条途径都能合成查尔酮。一般是具有欲合成查尔酮 A 环结构的苯乙酮衍生物与具有 B 环结构的苯甲醛衍生物在强碱条件下醛酮缩合，或在强酸条件下缩合而成。其中以 50%～60% KOH 或 NaOH 催化，在

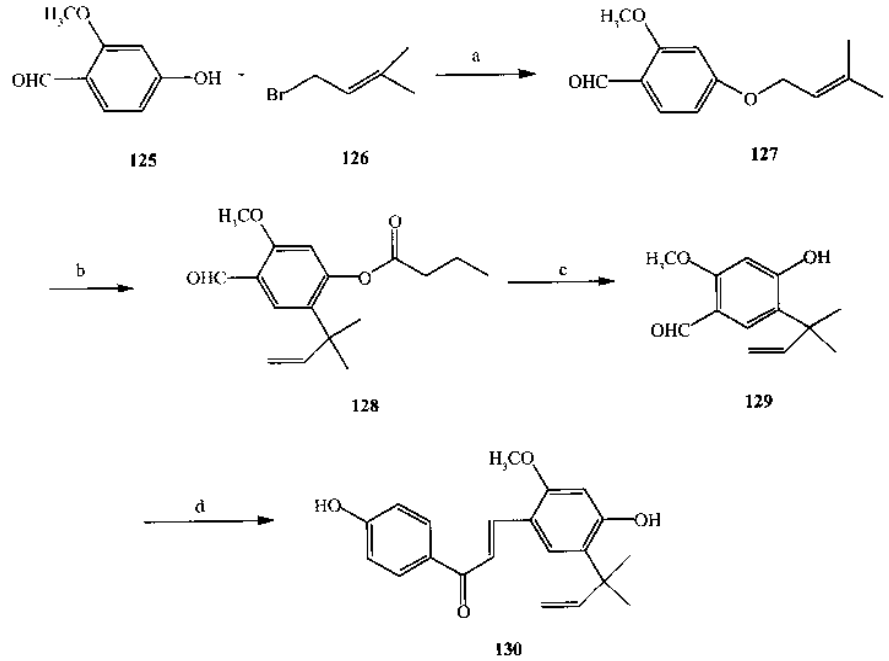


图 22-12

a. K_2CO_3, acetone; b. *N*, *N*-dimethylaniline, butyric anhydride; 190～200℃;
c. NaOH, EtOH; d. *p*-hydroxyacetophenone, HCl, EtOH

0～20℃缩合较常用，但是在酸、碱条件下可使查尔酮进一步闭环生成相应的双氢黄酮或者二者的混合物。

甘草查尔酮(licochalcone)的全合成[37]：合成甘草查尔酮**130**的主要工作是制备B环片段。中间体**127**在丁酸酐与二甲基苯胺作用下经克莱森重排和酯化生成中间体**128**，水解后得到B环片段**129**。如果没有丁酸酐酯化，克莱森重排的产率较低。然后将**129**与A环片段对羟基苯乙酮在酸催化下缩合成甘草查尔酮**130**，如图22-12所示。因为该查尔酮的2′位无羟基，在酸催化缩合时不会进一步闭环而生成双氢黄酮。

存在2′-羟基的查尔酮，在1%～2%的酸或碱中室温放置过夜，闭环生成相应的双氢黄酮。若在2′，6′位同时具有羟基，可加速环合进程。另外，查尔酮有3′位取代或有4-OH可抑制其闭环反应。

二、黄酮类和黄酮醇类的合成

由查尔酮或二氢黄酮脱氢可合成相应的黄酮化合物；双氢黄酮醇脱氢可获得相应的黄酮醇化合物。但合成黄酮类、黄酮醇类化合物不一定要经过查尔酮、双氢黄酮或双氢黄酮醇中间体，可直接缩合而成，常用的合成方法如下：

1. Baker-Venkatereman 法[38,39]

以黄芩素三甲醚(baicalein)的合成为例：这个方法的关键是分子内克莱森重排，中间体**133**在强碱——氢氧化钾或氢氧化钠的吡啶或苯、甲苯溶液中处理，生成β-二酮中间体**134**。

再以酸(H_2SO_4/EtOH)或弱碱(NaOAc/AcOH)处理则闭环生成黄芩素三甲醚**135**。β-二酮**134**以过氧甲酸处理，在羟基化的同时闭环生成3-羟基黄芩素三甲醚**136**，如图22-13所示。因此，这个方法可以延伸合成黄酮醇类。

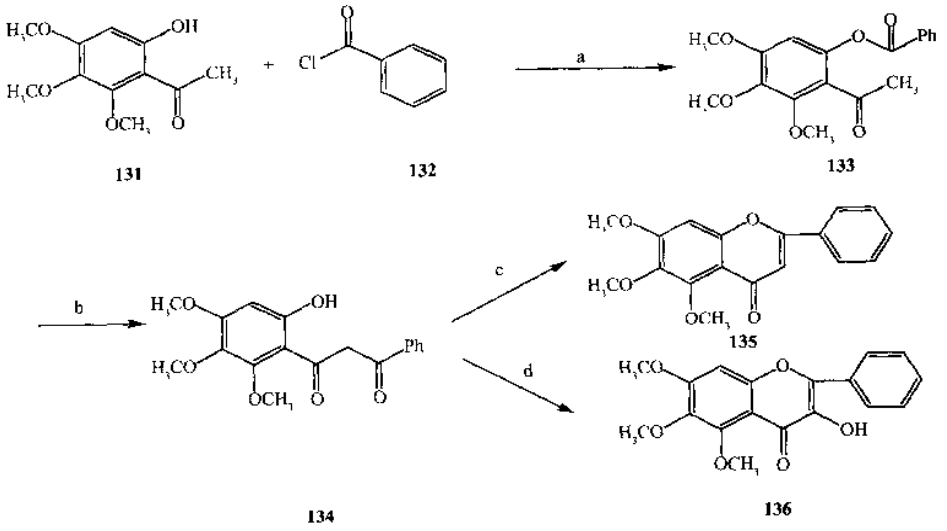
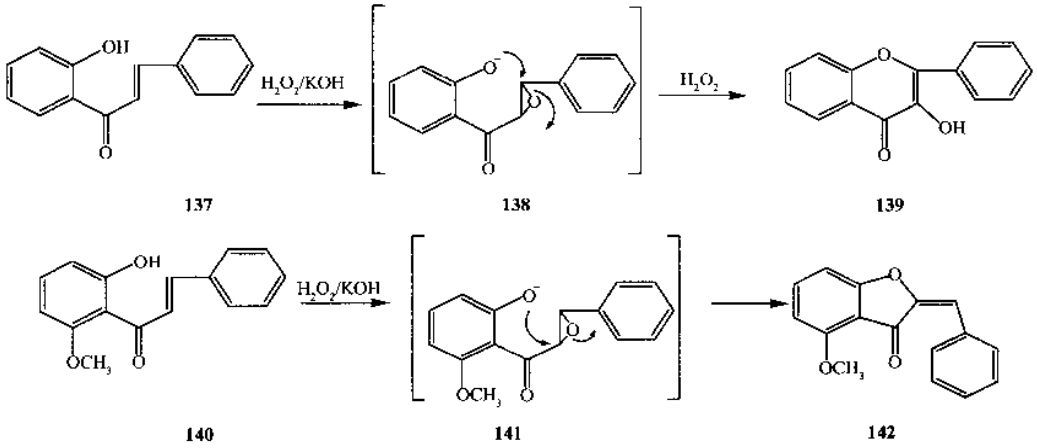


图22-13

a. K_2CO_3/Py；b. KOH/Py；c. H_2SO_4/EtOH；d. HCOOOH

2. Algar-Flynn-Oyamada 合成[40,41]

2′-羟基查尔酮**137**用碱性过氧化氢氧化一步可得到相应的黄酮醇，其反应机制是经过查尔酮的环氧化合物**138**生成双氢黄酮醇，该方法的副反应是亲核取代生成**142**。取代基和反应温度对选择性有影响：2或4位具有羟基，6′位没有甲氧基的查尔酮，反应产物主要是黄酮醇；反之，6′位有甲氧基并缺少2或4位羟基，则生成**142**和黄酮醇的混合物；高温对生成黄酮醇有利。



3. 异黄酮类的合成

异黄酮的合成有很多种方法，经典的方法是以苯基苄基酮的衍生物 84 闭环而成。闭环试剂的种类较多，如原甲酸三乙酯、氯化锌/盐酸、二甲基甲酰胺/三氯氧磷、甲酸乙酯/钠等。这些闭环剂对结构都有一定要求，如原甲酸三乙酯只限于苯基上有 2,3,6-三羟基取代的化合物；二甲基甲酰胺和三氯氧磷只限于间苯二酚氧化方式的化合物等。

甲酸乙酯法[42]合成芒柄花素(formononetin，**147**)即为该方法的一例，如图 22-14 所示。

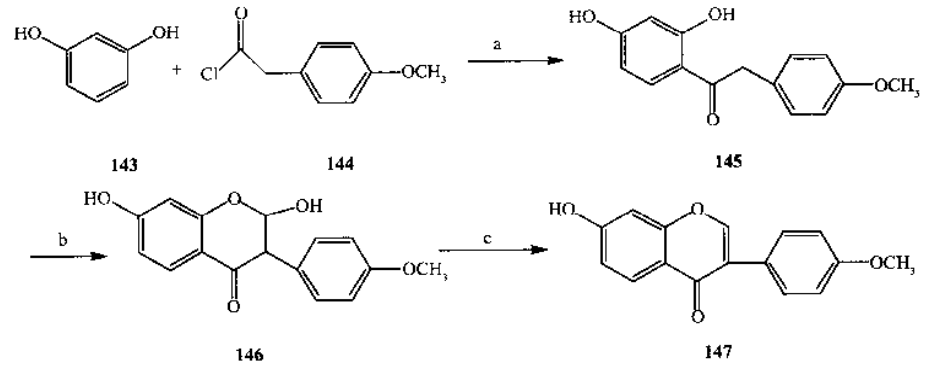


图 22-14

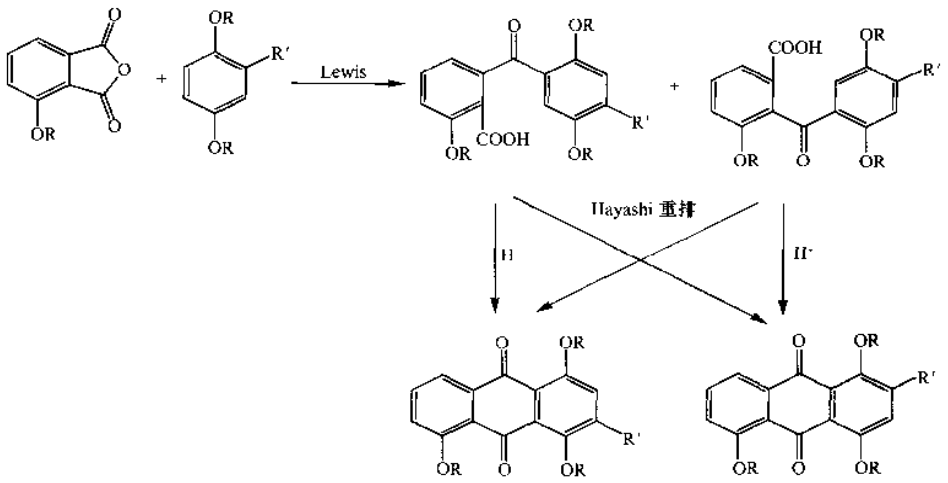
a. BF_3；b. HCOOEt，Na；c. HCl

第四节 蒽醌类的合成

早在 19 世纪中叶人们就对蒽醌进行合成研究。由于蒽醌类化合物的生理作用，尤其是抗肿瘤蒽环类抗生素的发现，激励人们不断地寻找新的合成方法。有关蒽醌环的合成方法大致有下列几种。

一、应用 Friedel-Crafts 反应

蒽醌的经典合成方法是用邻苯二甲酸或其衍生物与苯酚的衍生物进行双重 Friedel-Crafts 缩合。但对于不对称氧代蒽醌该方法缺乏位置选择性，分子内 Friedel-Crafts 缩合时，易产生 Hayashi 重排。反应如下：



改用 3-溴邻苯二甲酸**148** 用氯化锡催化进行烷基化反应，具有位置专一性(图 22-15)[43]。

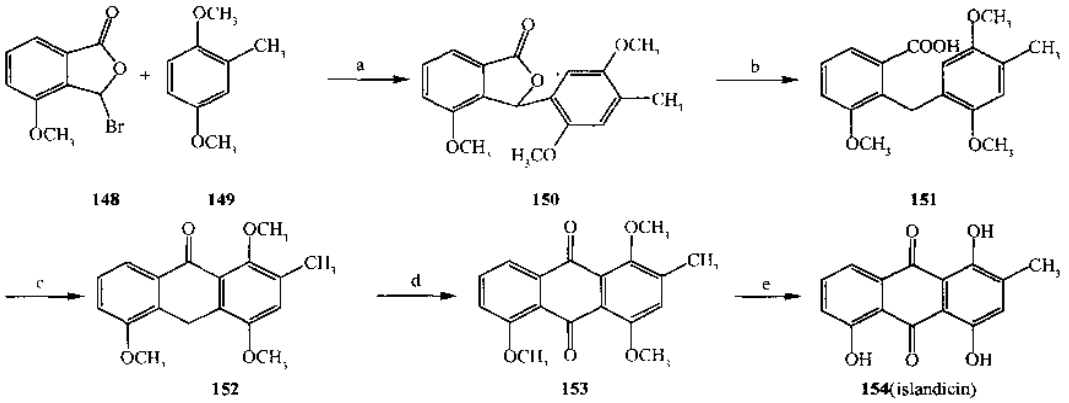


图 22-15

a. $SnCl_2$, CH_2Cl_2; b. Et_3SiH, TFA; c. TFAA, TFA; d. CrO_3, HOAc; e. $AlCl_3$, $C_6H_5NO_2$

二、应用 Michael 加成

3-氰基邻苯二甲酸酐**155** 经叔丁醇钾作用生成阴离子，再与 α,β-环己烯酮的衍生物(Michael 受体)反应生成蒽醌，如图 22-16 所示。这里氰基既是活化基团又是离去基团。此反应与 Friedel-Crafts 酰化反应相比其优点是产物的位置是确定的[44]。

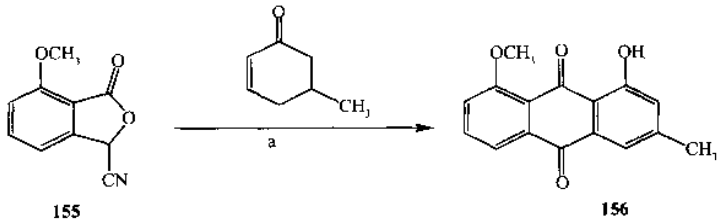


图 22-16

a. *t*-BuOK, DMSO

三、应用 Diels-Alder 反应

用经典的 Diels-Alder 反应所得产物，与 Friedel-Crafts 反应一样位置选择性差。Cano 用 3-羟基 2-吡喃酮 **157** 与氯代萘醌 **158** 在氧化铅存在下在乙腈中回流 8 天，一步反应得到 20% 产率的 **159** [45]，如图 22-17 所示。供电子的 3 位羟基控制着 Diels-Alder 反应的方向。

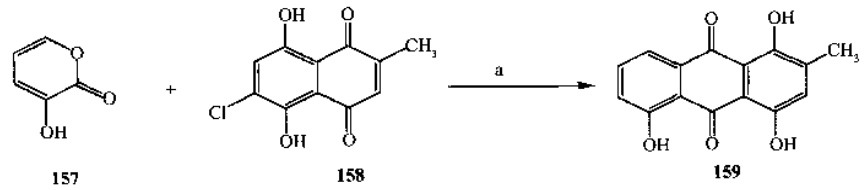


图 22-17

a. PbO_2, CH_3CN

四、*N*,*N*-二乙基苯甲酰胺的邻位金属化[46]

N,*N*-二乙基-3,5-二甲氧基苯甲酰胺 **160** 在仲丁基锂作用下在酰胺的邻位形成碳负离子，此碳负离子和醛 **161** 作用得一醇中间体，在对甲苯磺酸作用下，该醇中间体形成内酯 **162**，**162** 经还原得到酸 **163**，在三

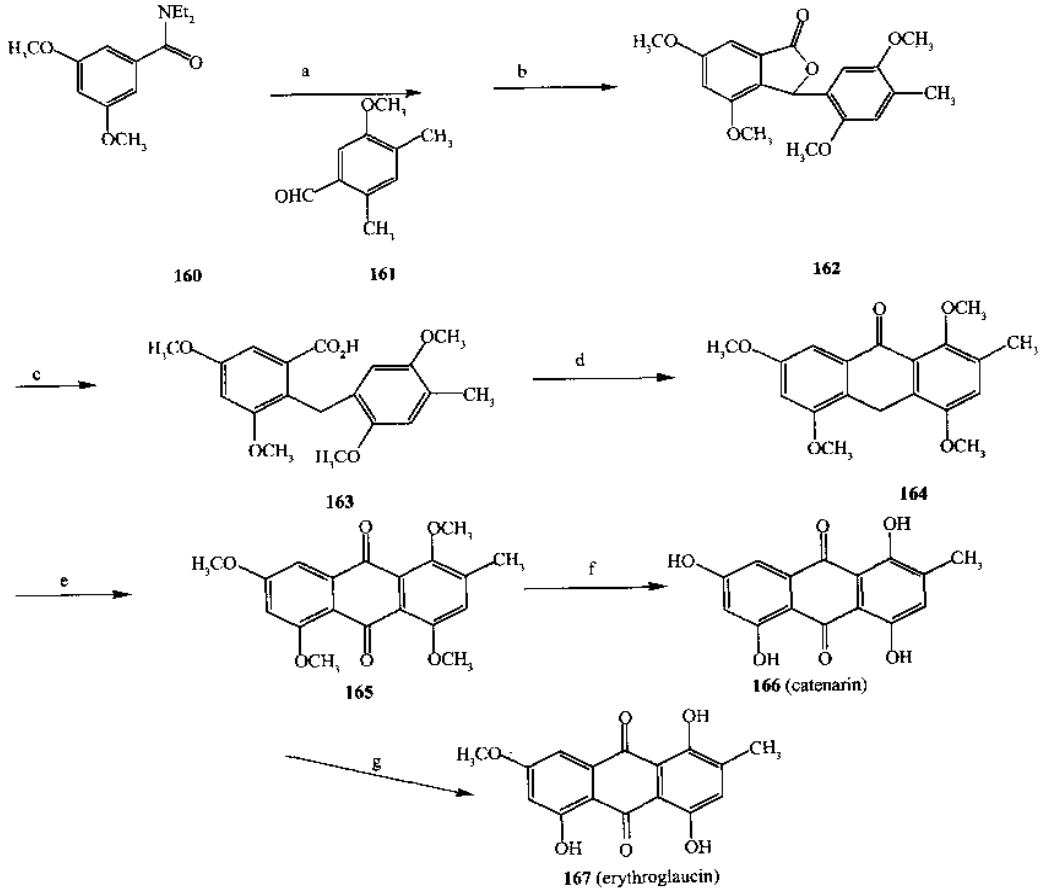


图 22-18

a. BuLi, TMEDA-Et_2O; b. TsOH, PhMe; c. Pd/C, H_2, HAc; d. 三氯乙酸, $CHCl_3$;

e. CrO_3, HOAc; f. Py-HCl; g. BBr_3, CH_2Cl_2

氟乙酸催化下 **163** 环合成 **164**，**164** 由三氧化铬氧化成蒽醌 **165**。**165** 在吡啶烟酸盐作用下得 catenarin **166**，而在三溴化硼作用下得另一产物毛嚣红(erythroglaucin)**167**，如图 22-18 所示。

第五节　木　脂　体

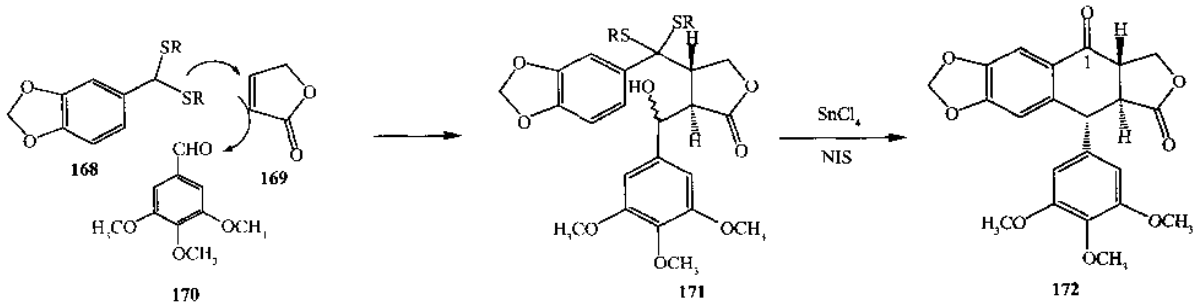
木脂体是由 C_6C_3 单元(丙烯基酚及其衍生物和/或烯丙基酚及其衍生物)氧化聚合而成的一类天然产物。通常是指其二聚体，其中鬼臼毒素和五味子素类化合物较有代表性，其合成研究也比较活跃。

一、鬼臼毒素

鬼臼毒素(podophyllotoxins)的衍生物 VP-16-213 和 VM-26 早已成为抗癌药物，所以其合成比较受重视，下面介绍两种方法：

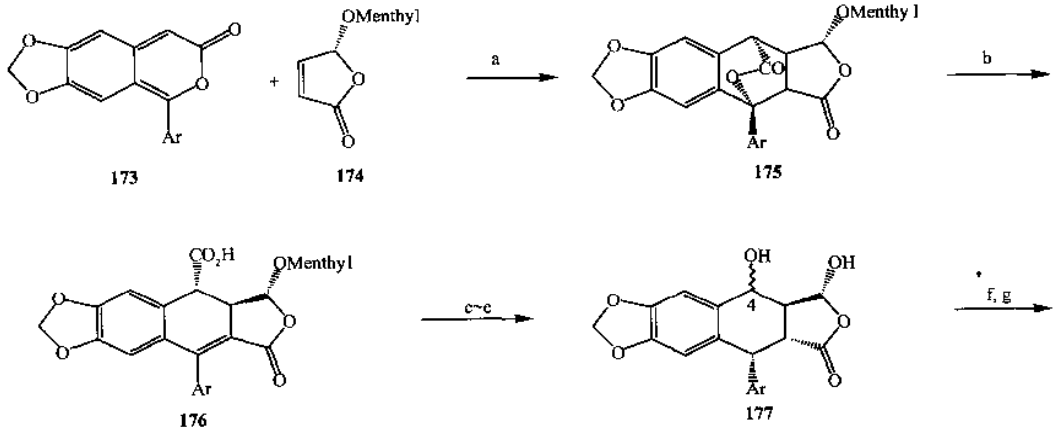
1．串联 1,4-1,2 加成[47]

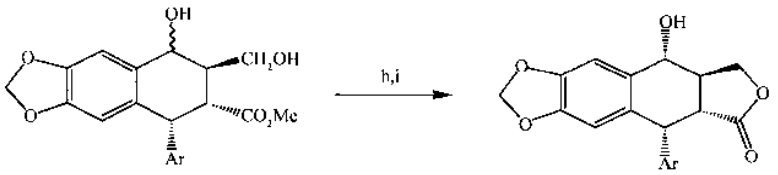
硫缩酮负离子**168** 与 α,β-不饱和酮 **169** 进行 Micheal 加成，以芳香醛 **170** 俘获阴离子中间体，则生成化合物 **171**，再经四氯化锡环化，NIS 水解，得到(±)-异鬼臼脂酮 **172**。产率高达 60%以上。若将**171** 以 Raney Ni 还原，再用四氯化锡环化，则在 1 位生成亚甲基，得到(±)-去氧异鬼臼脂素，产率在 70%左右。



2．用 Diels-Alder 反应

在有关鬼臼毒素和其类似物的报道中，关于它们的不对称合成的报道却很少。1996 年，Bush 和 Jones[48]报道了一条不对称合成(－)-鬼臼毒素的路线，总共八步，总产率 15%。其中的关键一步是使用 Feringa's 亲二烯体**174** 和邻醌型吡喃酮 **173** 立体选择性的 Diels-Alder 反应，其定位选择性和立体选择性都很高，如图 22-19 所示。





178 179

图 22-19

a.50℃,MeCN,碱洗过的玻璃反应器;b.AcOH,49℃;c.H_2,10%Pd/C,EtAc;d.$Pd(OAc)_4$,1:5 AcOH/THF;e.HCl, dioxane;
f.CH_2N_2,Et_2O/MeOH;g.$LiEt_3BH$,THF,-78℃;h.HCl,THF;i.$ZnCl_2$,THF,分子筛

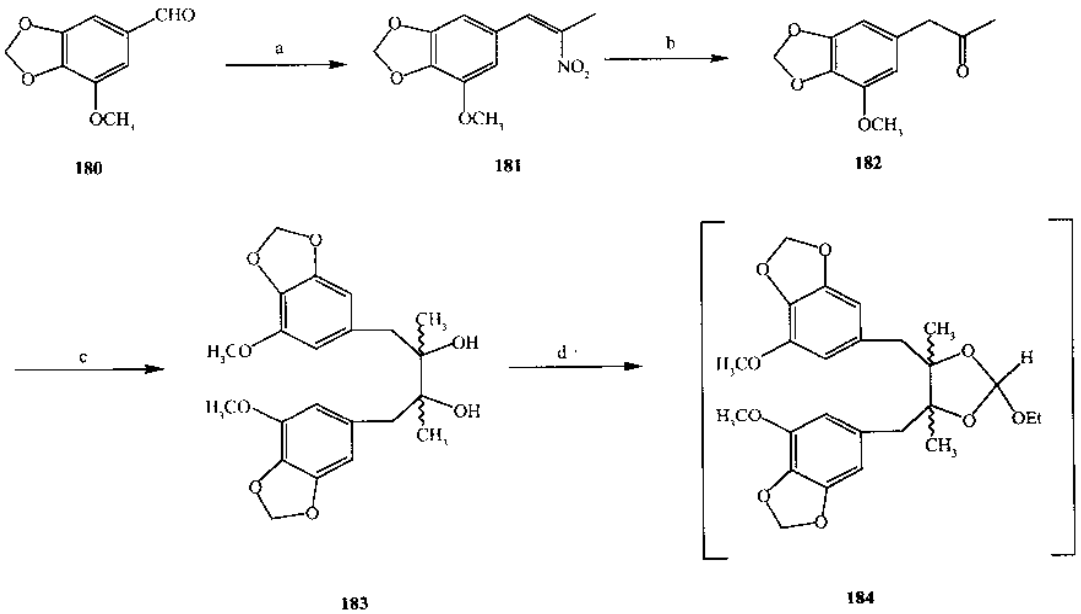
所有取代基的正确立体化学是在氢解不饱和内酯这一步中建立起来的,但是在用四乙酸铅氧化时在4位形成了一对异构体。这对异构体可以分离以后用于下一步合成,最后得到的鬼臼毒素的对映纯度为98%。

二、五味子素

由于五味子素类化合物具有重要的生理活性和复杂的立体化学,引起了许多有机化学家合成研究的兴趣。至今,已有多种合成路线发表,这里介绍几条有代表性的路线。

Takeya 等[49]利用酮缩合法进行五味子素类化合物的合成,其方法较简便,所用的试剂较廉价易得,但该方法只适用于芳核上取代基对称的化合物,如五味子丙素(wuweizisu C)。

醛**180** 与硝基乙烷(在六氢吡啶存在下)于苯中回流,生成硝基中间体 **181**,后者以铁粉,三氯化铁和浓盐酸还原水解,得 β-酮基化合物**183**,继而在苯甲酸存在下以原甲酸三乙酯脱羟基生成烯的**Z185**、**E186** 异构体混合物,其中 E 异构体在环己烷中(碘催化下)用紫外光照射可以转化成 Z 异构体,它们分别在乙酸中用氧化铂催化氢化得顺式二甲基和反式二甲基中间体。最后用高氯酸铁在无水乙腈中氧化偶合,得(±)-五味子丙素**187**,而反式二甲基中间体氧化偶合而得到五味子丙素的差向异构体 **188**,如图 22-20。



180 181 182

183 184

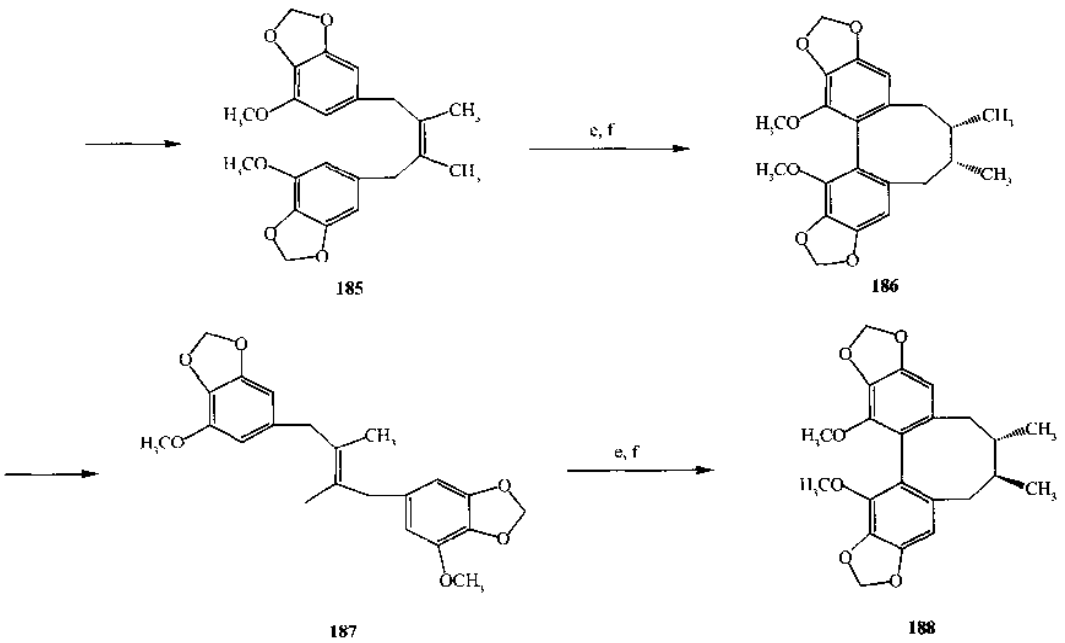
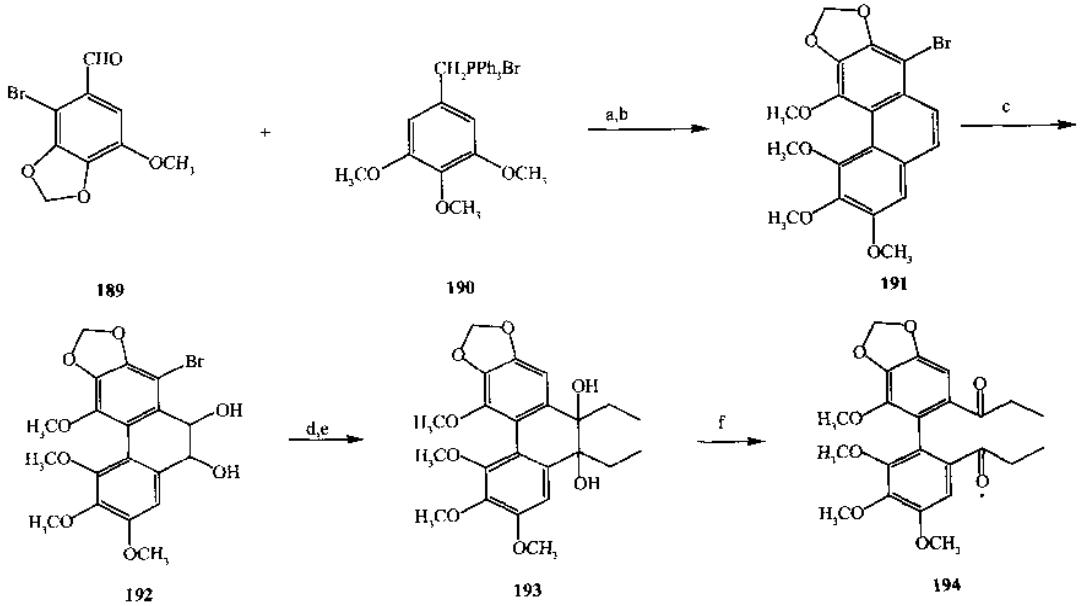


图 22-20

a. $EtNO_2$，苯，哌啶；b. Fe-$FeCl_3$，HCl；c. $TiCl_4$-Zn，THF；d. 原甲酸三乙酯，苯甲酸；e. PtO_2，AcOH，H_2；f. $Fe(ClO_4)_3$，MeCN

Mervic 等[50,51]发展了一种由非衍生物合成该类化合物的方法，该方法的收率较高，并可合成八元环氧取代和芳基取代不同的化合物。以(±)-kadsurin (**198**)的合成为例。

溴代芳香醛(**189**)在甲氧基锂存在下进行 Wittig 反应，生成烯的 E 和 Z 异构体，如在芳香醛 **189** 上没有溴代产物复杂。该混合物在四氢呋喃和环己烷溶液中，在碘存在下，用中压汞灯照射，生成菲衍生物 **191**。随后以四氧化锇、吡啶氧化、三氧化硫、吡啶氧化得酮。后者与格氏试剂反应延伸两个碳并同时脱溴 **193**，然后依次用四乙基铅氧化，溴化，Zn-Ag 或 Zn-Cu 环合，生成(±)-联苯环辛二烯酮(**195**)。将该酮在乙酸中以 Pd/C 催化氢化，由于与芳环共平面的酮容易氢化还原，仅使一个酮基还原成羟基，而且氢从立体位阻小的方向进攻，生成的羟基与两个甲基顺式 **196**。在甲磺酰氯与吡啶作用下将该羟基甲磺酰化 **197**，再以锂铝氢还原，再乙酰化得(±)-kadsurin (**198**)，如图 22-21 所示。



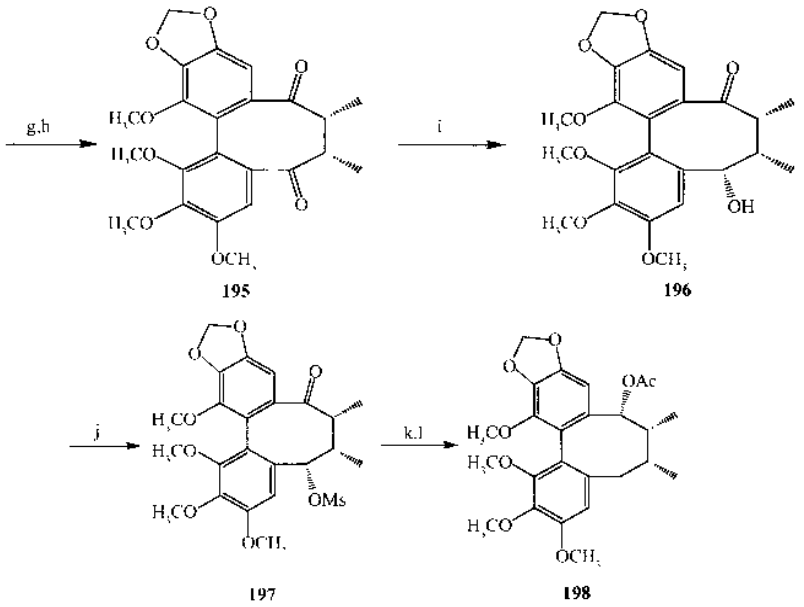


图 22-21

a. LiMe; b. UV, I_2, THF, C_6H_{12}; c. OsO_4, Py; d. SO_3/Py; e. EtMgBr, PhH; f. $Pb(OAc)_4$, PhH, Py; g. Br_2, ether; h. DMSO/DMF, Zn/Ag; i. Pd/C, AcOH, H_2; j. MsCl, Py; k. LAH; l. Ac_2O

Tanaka 等[52,53]使用对映选择性的方法建立环辛二烯环，合成了一系列的化合物，其中包括五味子丙素、Gomisin J、Gomisin N 和 γ-Schizandrin。下面以五味子丙素为例。以对映选择性地催化氢化不饱和酯 **199** 引入第一个手性中心，以这个手性中心控制其他手性中心的产生。另一个芳香基团以醇醛缩合，消除的策略引入到内酯 **200** 上。用高氯酸铁氧化偶合，接着经过加氢，还原，生成五味子丙素 **203**，如图 22-22 所示。

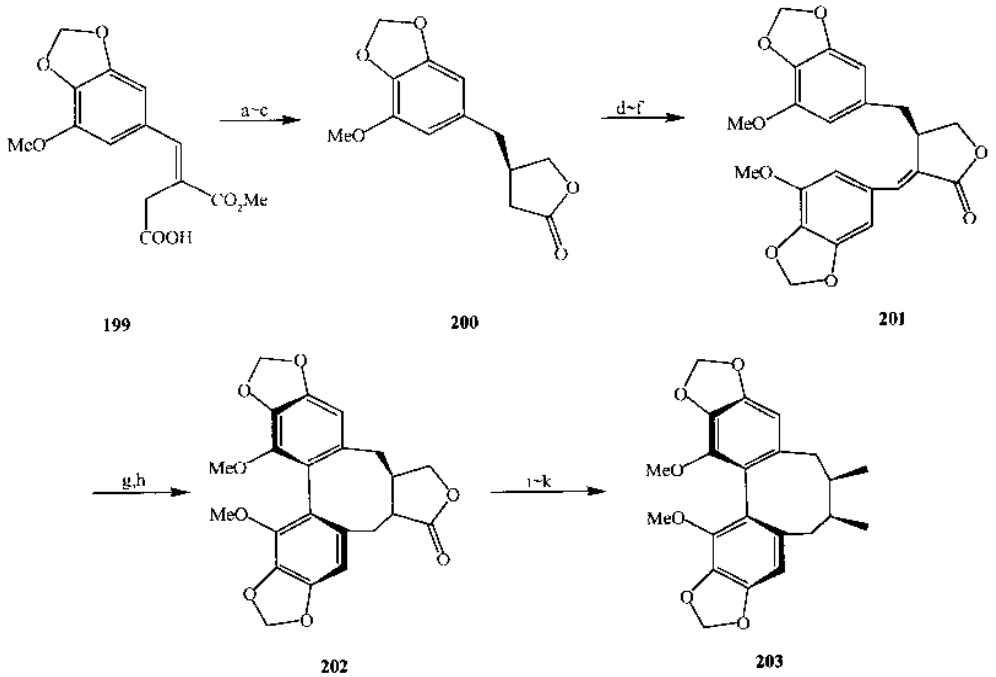
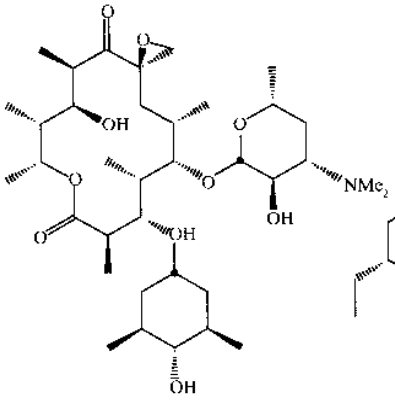


图 22-22

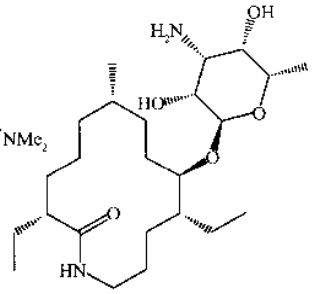
a. (S, S)-MOD-DIOP, H_2, $Rh(COD)_2BF_4$; b. $Ca(BH_4)_2$, KOH; c. HCl; d. $LiN(i\text{-}Pr)_2$, 3-methoxy-4,5-methylenedioxybenzaldehyde; e. Ac_2O, NEt_3, DMAP; f. DBU; g. $Fe(ClO_4)_3$, CF_3COOH, CH_2Cl_2; h. H_2, Pd/C; i. *i*-BuAlH; j. $MeSO_2Cl$, NEt_3; k. $LiBHEt_3$

第六节　大环内酯类抗生素的合成

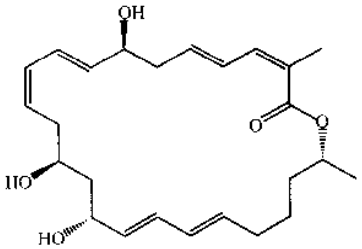
大环内酯类抗生素的结构和立体化学复杂性引起了有机化学家的极大兴趣，对它们进行合成研究大大地促进了合成方法学的创新。其结果是在立体选择性合成此类化合物中的惊人进展使构建此类化合物的效率大大提高。在此领域内的进展使我们不可能在这里做一个全景式的描述，我们只选择其中三个有代表性的化合物：夹竹桃内酯、fluvirucin B_1、macrolactin A 虽然这三个化合物都属于大环内酯抗生素，但是其用于构建大环的方法都很精巧且各不相同，很是引人注目。



夹竹桃内酯



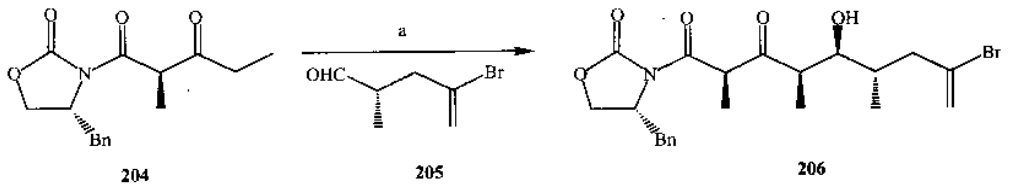
fluvirucin B_1



macrolactin A

一、夹竹桃内酯

夹竹桃内酯(oleandolide)的结构和药理作用和红霉素很接近。分子内有多个手心中心，自 1990 年以来有三个合成的报道，分别是 Tatsuda[54]、Paterson[55]和 Evans[56]。他们的合成为不对称构建此类化合物提供了很好的范例。其中 Evans 利用夹竹桃内酯上手性基团互相接近的特点，利用底物控制的策略，非常简洁地实现了合成。Evans 第一个将酰亚胺辅剂(Evans 试剂)用于不对称合成具有多个丙酸结构的化合物。一个非常高效和优美的例子是利用 β-酮酸亚胺**204** 和醛 **205** 之间的醇醛缩合反应构建二丙酸片段。在这里也就是 C(1)～C(8)片段的合成。利用 $Ti(i\text{-}OPr)Cl_3$ 和三乙胺处理**204**，导致了 C(4)上的酮化学选择性地烯醇化，此顺式烯醇选择性地和**205** 反应生成 **206**，如图 22-23 所示。

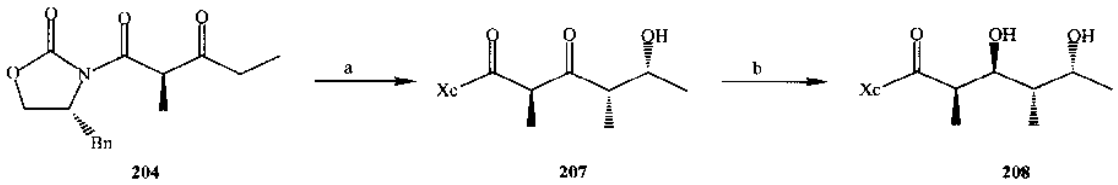


204　　**205**　　**206**

图 22-23

a. $Ti(i\text{-}OPr)Cl_3$

为制备 C(9)～C(10)部分，相应的立体化学用三氟乙酸锡催化的醇醛缩合而得，所得的**207** 是异构体比例为 83∶17 的混合物。和用 Ti 催化的反应相反，这次得到的产物的立体化学是反式的，对这一点 Evans 在他的很多文章中都做了探讨。将**207** 直接 $Me_4NBH(Oac)_3$ 还原成 1,3-anti-醇**208**。此试剂是由 Evans 发展的，用于非对映选择性还原 β-羟基酮生成 1,3-anti-二醇，如图 22-24 所示。

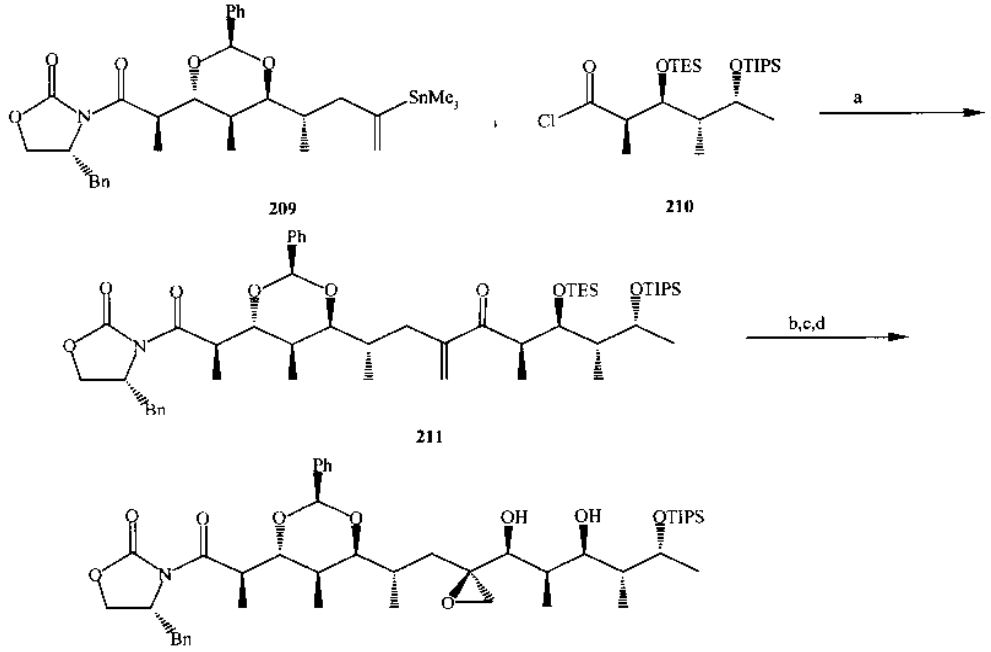


204 207 208

图 22-24

a. $Sn(OTf)_2$, MeCHO; b. $Me_4NBH(OAc)_3$

将**206** 经过必要的转化生成 **209**。在 Evans 的合成中，有战略性意义的一步是汇聚两个高度官能化的片段，**209** 和 **210**。这一步创新性地以钯催化进行将烯基锡 **209** 用酰氯 **210**、$Pd_2(dba)_3$、*i*-PrNEt 在苯中处理，得到不饱和酮**211**，产率 85%。在合成了 C(1)～C(14)片段后，他们选择了用 9-(S)羟基控制下的 Sharpless 环氧化反应，立体选择性地形成 C(8)的环氧。至此，所得的开链化合物**212** 具有大环上所有需要的手心中心，而合成这一片段 Evans 从 **204** 开始只用了 11 步，如图 22-25 所示。

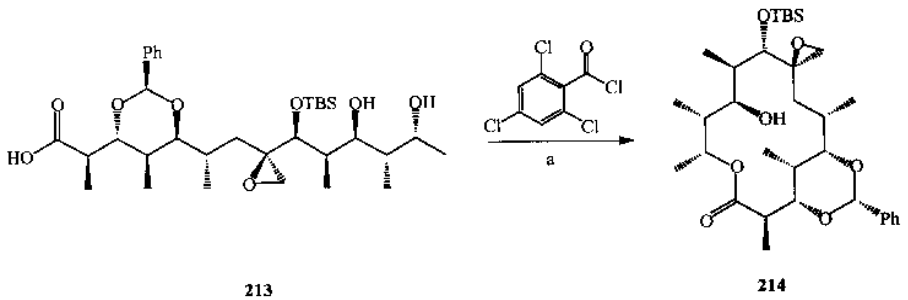


209 210 211 212

图 22-25

a. $Pd(dba)_3$, *i*-Pr_2NEt; b. HF Py; c. $Zn(BH_4)_2$; d. $VO(acac)_2$, *t*-BuOOH

最后 Evans 利用 Yamagushi 的方法[57]，将含环氧基的开链酸**213** 关环成大环内酯化合物 **214**，如图22-26 所示。将**214** 脱保护，氧化，可得到合成的夹竹桃内酯(oleandlide)。



213 214

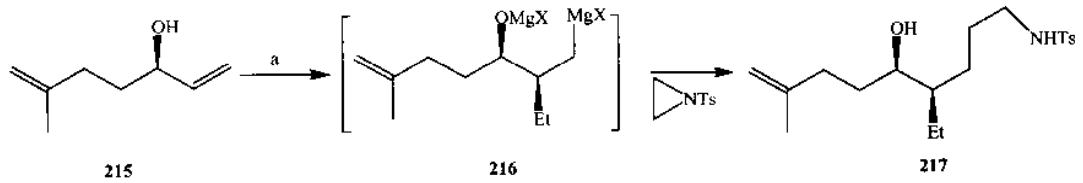
图 22-26

a. DMAP, *i*-Pr_2NEt, CH_2Cl_2

二、fluvirucin B_1

和夹竹桃内酯不同的是，fluvirucin B_1 只有少数几个相距很远的手性中心，这就难以用底物控制的方法进行构建，而且具有迷惑性的简单使大环的构建非常困难，因为这个环具有高度的柔性，从而使成环非常困难。两个研究小组发表了他们的合成，其中相距遥远的手性中心和 14 元环都是依靠过渡金属催化构建的[58~61]。

Hoveyda 以**215** 为原料，该化合物可以用 Ti(IV)催化的 Sharpless 动力学拆分外消旋体得到。非对映选择性地将**209** 用 Cp_2ZrCl_2 催化下乙基镁化（该方法由 Hoveyda 发展而来），得到**216**。再将其原位与过量 *N*-甲苯磺酰环乙亚胺反应，生成 C(6)～C(13)片段，具有所有需要的官能团，作对映选择性高达 97∶3，如图 22-27所示。

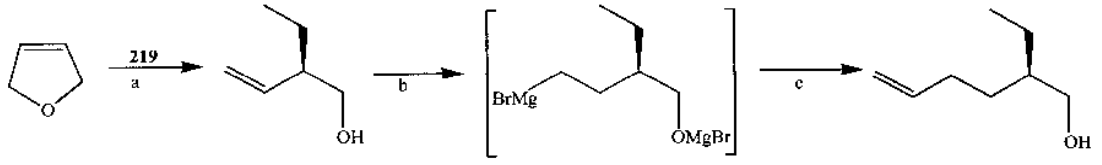


215　　**216**　　**217**

图 22-27

a. EtMgBr, Cp_2ZrCl_2

合成另一个片段同样使用了 Haveyda 催化定位选择性地乙基镁化，这次使用的底物 3,5-二氢呋喃。乙基溴化镁在**219** 的催化下用过量二氢呋喃处理，以 99% 的 ee 值得到**220**。将此烯醇用 *n*-PrMgBr 和 3mol% Cp_2TiCl_2 处理氢镁化成**221**。**221** 原位与溴乙烯在 3mol% $(Ph_3P)_2NiCl_2$ 偶合生成**222**，总产率 72%，如图 22-28所示。



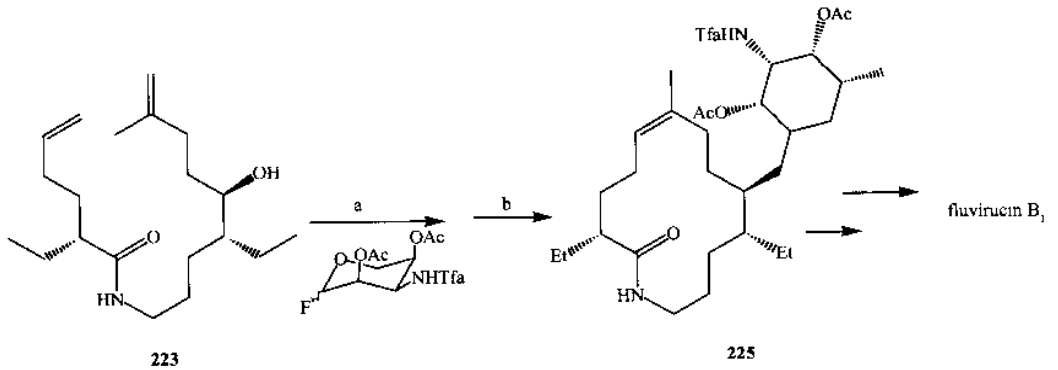
218　　**220**　　**221**　　**222**

图 22-28

219 = (*R*,*R*)ethylene-1,2-bis(η^5-4,5,6,7-tetrahydro-1-indenyl)titanium®-1,1′-binaphth-2,2′diolate

a. EtMgBr; b. *n*-PrMgBr, 3mol% Cp_2TiCl_2; c. vinyl bromide, 3mol% $(Ph_3P)_2NiCl_2$

将**222** 氧化成酸，将其与片段 **217** 偶联后可得化合物 **223**，接上糖元，再在 20% 的 Schrock 催化剂**224** 的催化下以 92% 的产率得到**225**。如果在关环后接糖元，得不到所需要的化合物。将**225** 催化氢化以 84% 的产率和 98% 的 de 值得到所需的产物，而后脱保护可得 fluvirucin B_1，如图 22-29 所示。



223　　**225**

图 22-29

a. $SnCl_2$, $AgClO_4$; b. **224**, PhH; **224** = $Mo(CHCMe_2Ph)[N(2,6\text{-}(i\text{-}Pr)_2C_6H_3)][OCMe(CF_3)_2]_2$

三、macrolactin A

Macrolactin A 是一个具有多个二烯结构的大环内酯，初步的研究表明使 T-淋巴细胞抑制 HIV 病毒的复制，但是这种新型的大环内酯在自然界中非常难以获得，因而其生物活性的研究只能依赖于实验室的合成。由此而引起的合成挑战吸引了不少小组去寻求有效的合成方法。三个不同的小组[62~64]独立报道了合成 macrolactin A 的核心部分，其中两个小组得到了目标分子。

第一个全合成 macrolactin A 由 Smith 所报道，研究人员通过钯催化的偶联反应，变换所用的烯基锡和碘化物的反应部分，对 C(9)～C(10)的成键进行了精确的研究。合成含有 C(7)、C(13)和 C(1)手性中心片段时采用了以手性烯丙基硼烷[(R)-,(S)-diisopinycampheyl allylboranes]立体选择性地将丙炔醛烯丙基化得到**226**、**232**，其 ee 值高达 90%。通过保护二级醇和臭氧化断裂**226** 的端位烯键生成醛 **227**，将其和 $CrCl_2$，LiI，$Bu_3SnCHBr_2$ 作用得到了**229**。这个烯基锡用作一系列化学选择性钯催化转化的起始原料，直至得到**231**，在这中间用顺式 3-碘丙烯酸**229** 和 **228** 偶联，以及炔基氢锡化时羧基并没有保护，如图 22-30 所示。

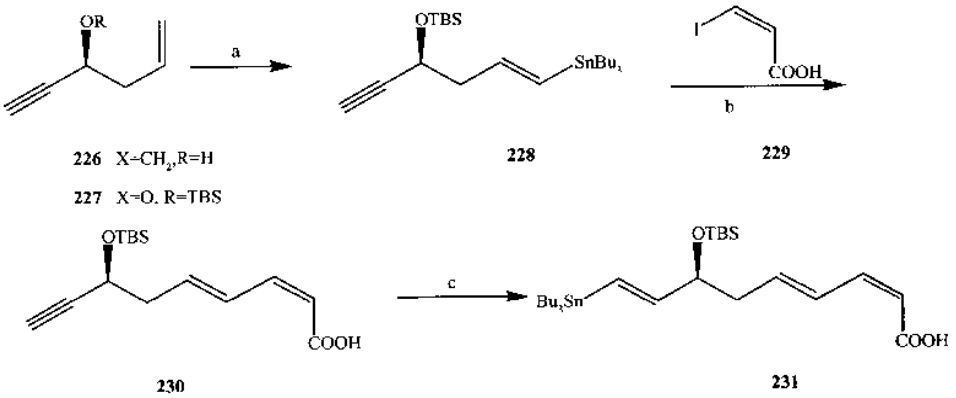
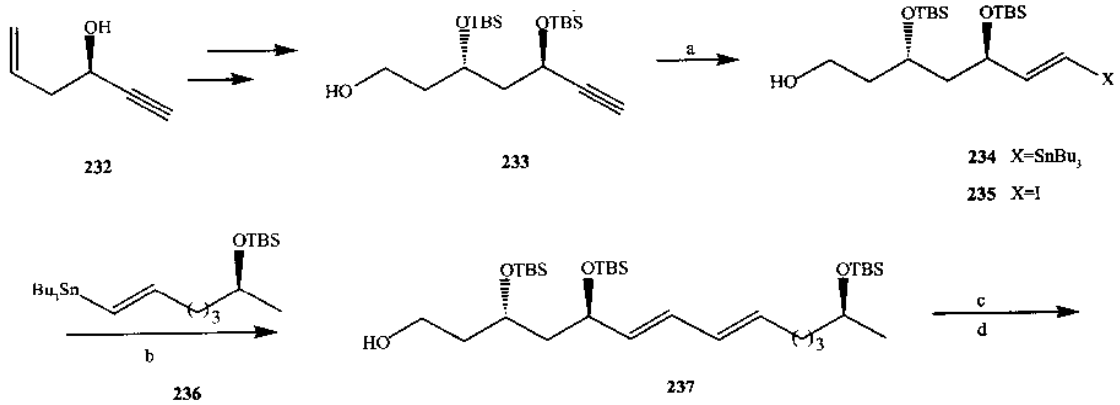


图 22-30

a. $Bu_3SnCHBr_2$, $CrCl_2$, LiI, DMF; b. $PdCl_2(MeCN)_2$; c. $PdCl_2(PPh_3)_2$, Bu_3SnH

226 的对映异构体 **232** 用作另一个片段的起始原料。经转化成炔 **233** 后化学选择性地氢锡化给出烯基锡 **234**，它在锡卤交换后得 **235**。将此烯基碘与烯基锡 **236** 偶联后生成含有 C(9)～C(24)的片段**237**，将 **237** 氧化所得醛用 Stork 试剂转化化成烯基碘 **238**。此片段含有 Macrolactin A C(9)～C(24)所要求的手性中心和反式双键，如图 22-31 所示。



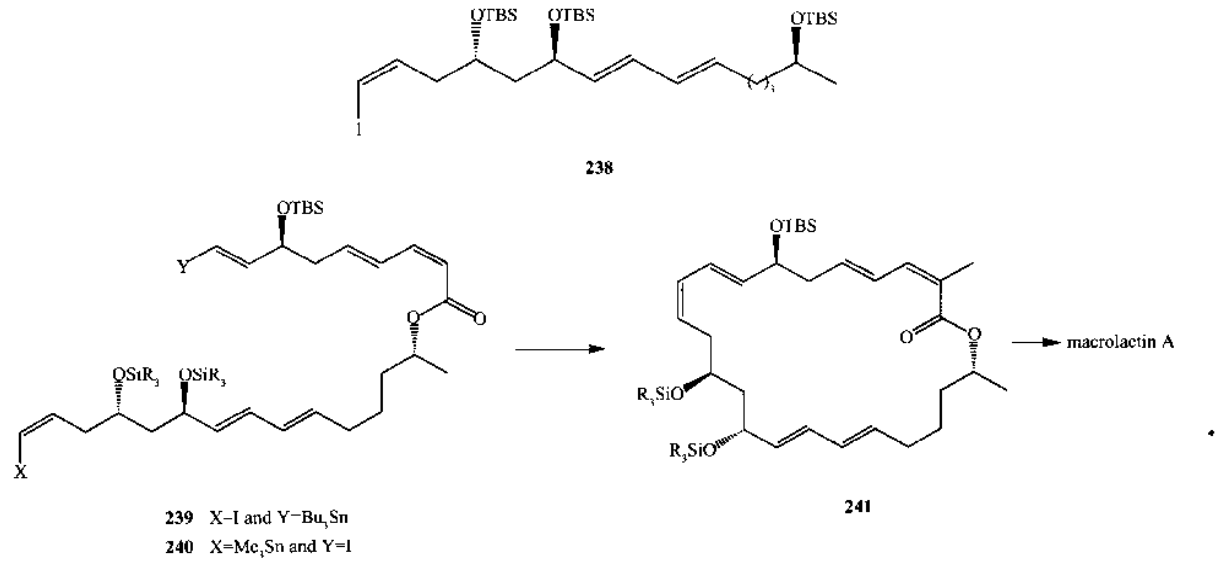


图 22-31

a. $PdCl_2(PPh_3)_2$, *n*-Bu_3SnH; b. $PdCl_2(MeCN)_2$; c. Dess-Martin; d. $(Ph_3PCH_2I)I$, NaHMDS

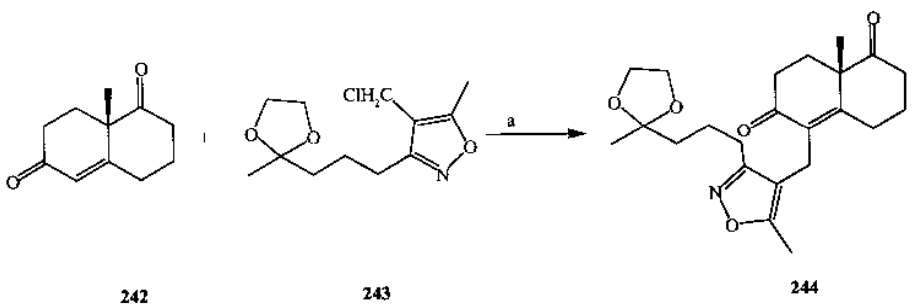
在 Smith 的合成中以 C(9)～C(10)之间成键实现了最后的环合，他们使用了两组不同的前体：C(9)锡化物/C(10)碘化物和 C(9)碘化物/C(10)锡化物。在优化关环条件时对保护基作了必要的更换(R = Et)，以 56%的产率得到了保护的 macrolactin A，经脱保护即可得到合成的 macrolactin A。

第七节　甾体和前列腺素

甾体类化合物广泛存在于动植物体内，有良好的生物活性，通过对其进行结构改造，发展出了很多有用的药物。其四元稠合环结构和复杂的立体化学引起了合成化学家的极大兴趣，为合成此类化合物发展出了许多方法。

经典的合成途径往往需要逐个构建这些环并控制其立体构型，如 Stork 等对黄体酮(progesterone)的合成[65]。

用 NaH 偶合**242** 和 **243**，生成 **244**，$NaBH_4$ 还原饱和羰基，氢化，再环合，NaOH 水解，生成**245**。在引入 C(18)甲基时创新性地在液氨中用金属锂产生 Li 离子，而后以碘甲烷俘获，生成**246**。关环后生成 **247**，而后可以转化成 **249** (±)-progesterone，如图 22-32 所示。因为所用的原料**242** 是消旋体，所以只得到消旋的黄体酮。



242　243　244

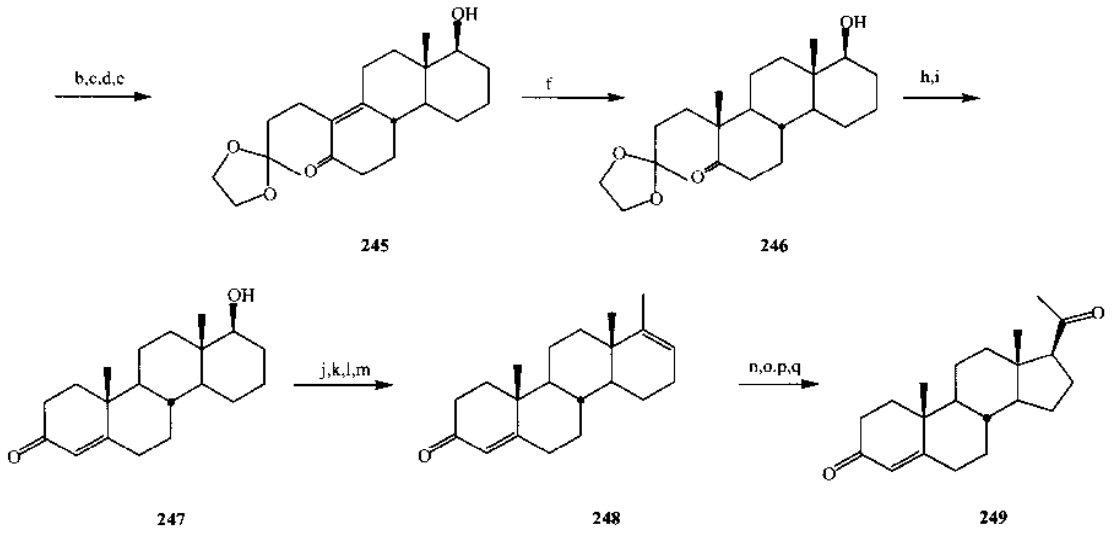
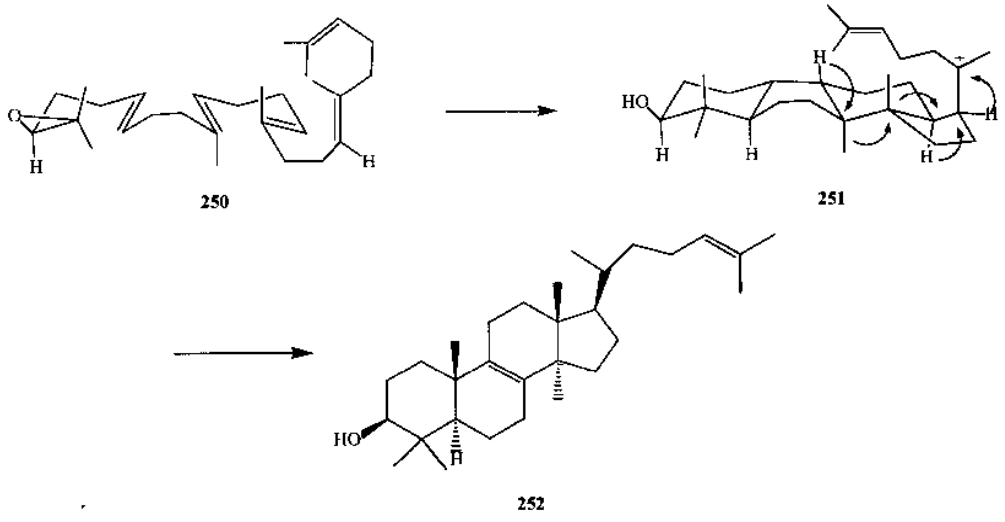


图 22-32

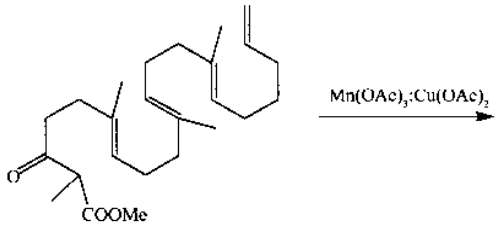
a. NaH, glyme; b. $NaBH_4$, EtOH; c. Pd/C, H_2; d. NaOMe; e. 3% NaOH; f. Li, liquid ammonia, then MeI; h. H^+, H_2O; i. NaOH, MeOH; j. Dioxolanation; k. Sarett oxidation; l. MeMgBr; m. $SOCl_2$, pyr; n. HCl, MeOH, H_2O; o. OsO_4; p. $MeSO_2Cl$, Et_3N; q. *t*-BuOK

通过 40 多年对甾体生物合成中酶催化环合机制的研究，人们认识到可以用环化多烯环氧化合物来合成甾体。Goldsmith 等首先进行了体外模型实验的研究，Van Tamelen 和 Corey 等小组的早期工作论述了 2,3-环氧角鲨烯可以是羊毛甾醇的中间体。2,3-环氧角鲨烯可以用猪或鼠的肝中的酶催化环合，也可以以面包酵母环化[66]。一般认为，2,3-环氧角鲨烯是通过船式-椅式-船式构象保证环化过程中的立体构型的控制的，关于其机制还在进一步深入研究中[67]。反应如下：



用 Lewis 酸催化环合多烯构建甾体骨架往往有些困难，需要在多烯中引入一些取代基才能得到所希望的构型[68]。有一个好办法是利用自由基途径来实现关环，其中使用三乙酸锰促进的 β-酮酸酯自由基是比较成功的。Zoretic 等[69]将它应用于 D-高-5α-雄甾烷-3-酮(D-homo-5α-androstane-3-one)的合成。在自由基途径中，D 环的大小决定了其环合过程中的立体化学，对于六元环来说，它是以反式构型稠合在 C 环上的，而当 D 环是五元环时，它是以顺式构型稠合在 C 环上的。这一点在合成(±)-14-表雌激素酮[(±)-14-Epiestrone]中得到了应用[70]。其中**256** 可以被转化成(±)-14-表雌激素酮。

前列腺素(PGs)被认为是重要的局部激素，和很多重要的生理功能有关。其天然来源很有限，急需有效



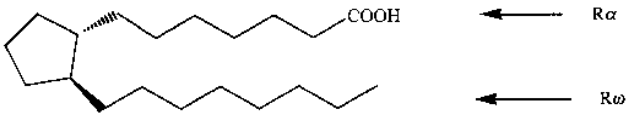
253　254



255　256

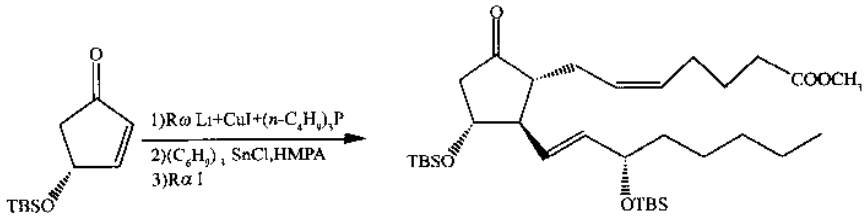
且可应变的合成方法保证向生物学、生理学和医学各领域提供足够的天然 PG 和其结构改造产品。在前列腺素的多种合成方法中[71~74]，当数 Noyori 等发展出来的三组分偶合方法最为简单有效[75]。

257 为前列腺烷酸的结构，最简单的前列腺素化合物含有 α 侧链和 ω 侧链。前列腺素的不对称合成就必须不对称地引入这些单元。

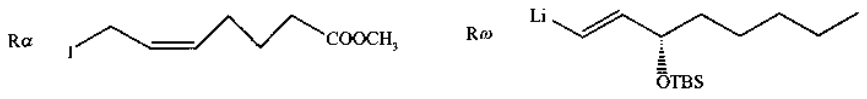


257

以 PGE_2 为例，等摩尔量的 ω 侧链乙烯基锂、CuI 和 2.3mol/L 的 $(n\text{-}C_4H_9)_3P$ 原位生成有机铜试剂，在有机锡化合物存在下与手性硅烷氧基烯酮发生共轭加成。再用 α 侧链碘化物俘获中间体，这样去掉保护基后即得到 PGE_2。片段**258**、**260**、**261** 可以用多种方法得到[76~84]。Noyori 利用这种方法合成了一系列的前列腺素类化合物。



258　259



260　261

第八节　环　　肽

环肽在医药、生物和合成化学领域的重要性无论怎么评价都不会过分。环合一根线性肽链是用于强制肽链减少构象的一种常用的成功策略，通常，使有生物活性的肽链可以具有更大的特异性、更强地结合于相应受体、更好的生物利用率或更好的抗蛋白水解作用。相应地，许多天然环肽被发现具有强烈的抗菌、抗病毒和抗肿瘤作用。在过去的 5～10 年中，用于复杂环肽合成的试剂和方法有了很大进展。同时，发现新的环

肽的势头丝毫没有减弱，不断地给合成化学家提出新的挑战。

在天然界中，肽的环化可以通过二硫键形成，典型的是两个半胱氨酸残基或通过酰氨键而得。酰氨键可在 N 和 C 末端或赖氨酸和谷氨酸或天门冬氨酸侧链，或在 N 或 C 末端和相应的侧链上形成。

大多数简单的环肽只有酰氨键，即使对于更复杂的环肽，以酰氨键关环也是最好的策略。环化过程，自然是熵不利的，而且会有严重的二聚或三聚，所有这一切都导致了低产率。另外，活化 C 端羧基可能带来相邻的手性中心外消旋的危险。最好选择在哪儿断裂，要考虑以下几个因素[85-87]：

1）用于成大环内酸氨的断裂处应该不含有位阻（β-支链或 α，α-二取代）的氨基酸或 *N*-烷基化的氨基酸，因为这一般在环合反应中导致低产率。

2）如果线性肽前体采用一种弯转而不是伸长的构象，环化将有利；肽中含有如甘氨酸或脯氨酸时环合会很快；据认为这种残基在线性前体中部时结果最好[88]。

3）还观察到在 D 和 L 残基间关环是有利的[89]。

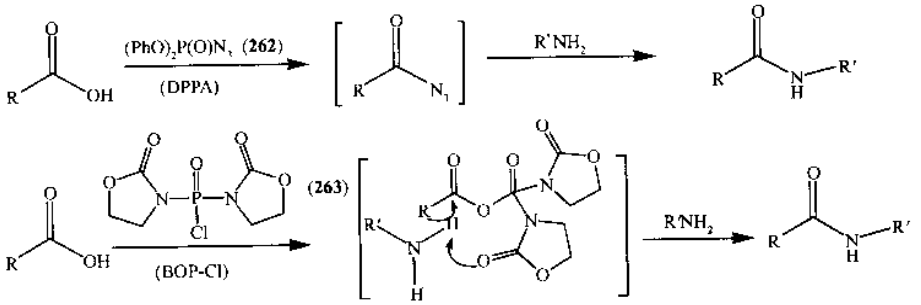
一般来说，在溶剂中以大的线性肽生成大环内酸氨不会有问题，一般在极稀的溶液中进行环化。然而，中等或小环肽一般约有六个或更少残基，环化物一般要求线性肽采用一种不利的构象。环化的难易对氨基酸序列依赖性很大；如果不含有甘氨酸或脯氨酸以引入弯转结构，环化会很慢，完成后有消旋体或二聚体。

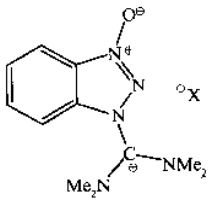
一、片段连接和环化

1. 溶液中的环化

合理地选择用于活化 C 端保护的线性前体的试剂是合成策略成功的关键。这个经常遇到的困难导致了发展出一些强有力的试剂以完成片段连接和环化[90]。

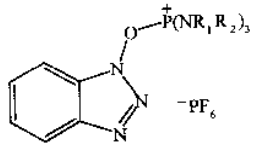
一些用以形成酰氨键和合成线性肽的常用试剂组合如 DCC/HOBt 和 DCC/DMAP 反应很慢而且易于形成 C 端异构体[91]。外消旋体量少的可靠环化以叠氮化物方式得到，使用的是二苯磷酰叠氮（diphenylphosphoryl azide，DPPA，**262**，在原位生成叠氮化物）[92,93]，而这个方法会很慢，把 C 端转化成五氟苯酯（pentafluorophenyl ester）是很多溶液相合成大环内酰氨的一种选择，它一般在使用无位阻氨基酸[94,95]时得到良好的效果。BOP-Cl **263** 被证明是形成大环内酰氨键或偶联的有效试剂[96,97]是由于分子内碱催化机制所引起的[98]。磷试剂如二乙基磷酰腈［$(EtO)_2P(O)CN$，DEPC］[99]苯基次磷酸五氟苯酯［$Ph_2P(O)OC_6F_5$，FDPP］[100]成功地用作偶联试剂[101]，是在别的试剂不行的情况下，FDPP 还很好地导致大环内酰氨键的形成[102]。





265 X=PF_6^-，HBTU

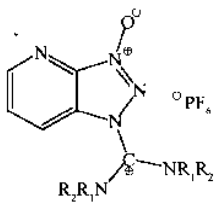
265 X=BF_4^-，TBTU



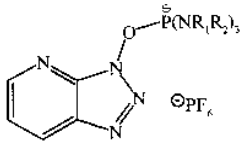
266 $R_1=R_2$=Me.BOP

267 $R_1=R_2=-(CH_2)_4-$，PyBOP

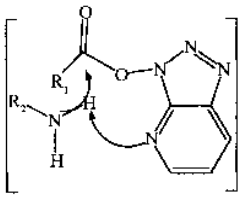
脲试剂如 HBTU **264** 和 TBTU **265**[103]，和膦类试剂如 BOP **266**[104]和 PyBOP **267**[105]，都是原位形成活化的 HOBt 酯，对合成线性和环状肽都是很有好处的。虽然在使用这些试剂时外消旋体的水平很高，但是这样的环化通常很快。它们在侧链环化时也有很广的用途[106]。然而通过 Carpino 等在最近的广泛研究，氮杂苯并三唑衍生物如 HATU **268**、HAPyU **269** 和 PyAOP **270** 显示出在产率和速度方面非常出众，而且一般只给出少于 10% 的 C 端外消旋体[107]。这样的结果再次被认为是由于中间体 HOAt 酯的一般碱催化所引起的[108]。



268 R_1–R_2–Me，HATU



270 R_1=R_2–$-(CH_2)_4-$，PyAOP



269 R_1=R_2–$-(CH_2)_4-$，HAPyU

将小到中等长度肽链头尾相接的补充办法是用在以酰氨骨架上可逆烷基化的办法引入一个弯转结构。在图 22-33 中所示的酰氨骨架上用 Hmb 保护基进行烷基化的肽链环化的产率是未用 Hmb 烷基化时的两倍[107]。Hmb 基团随后可以用呱啶处理去掉。Boc 基团引入到四苯基丙氨酸位的酰氨骨架上导致了本来刚性的直链肽关环[109]。

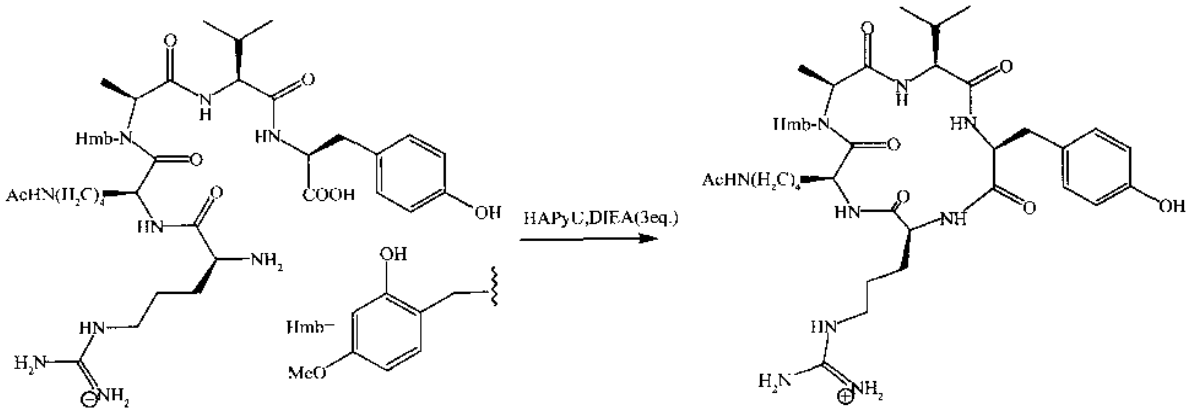
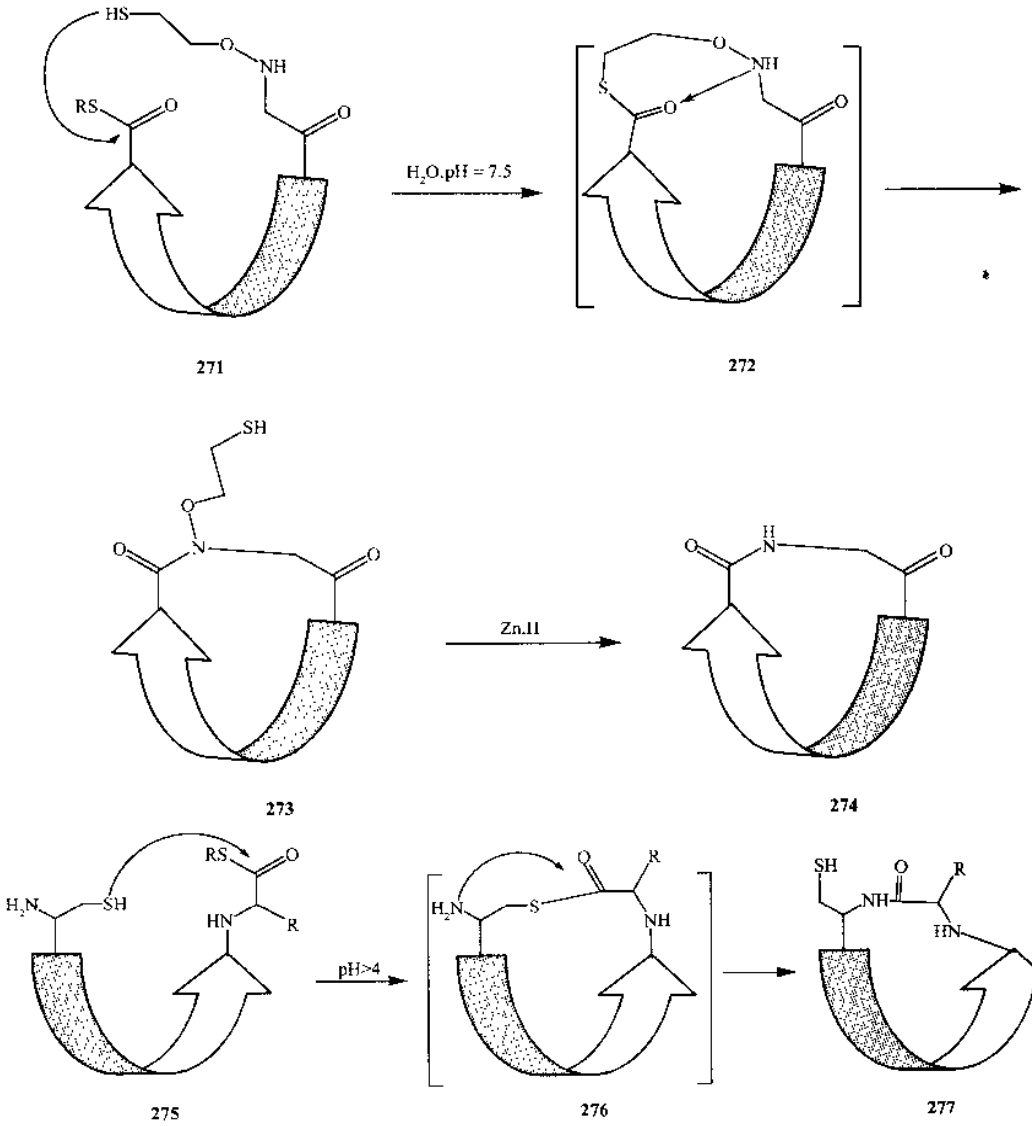


图 22-33

在环合完全保护的直链肽过程中，会遇到在水相或有机溶剂中可溶性差的问题。这个问题可以用两个有创意办法，在水相中环合非保护的直链前体来避免。Kent 等[110]使用他们创造的化学捆扎方法来完成 Eglin C 的环合。未保护的线性前体**271** 在 N 端含有氧乙硫醇基团，它与 C 端反应形成环状硫酯中间体**272**，而后重排成酰氨键的环肽**273**，氧乙硫醇随后用还原反应除去得**274**，没有明显的二聚或消旋体发现。值得提到的是和天门冬氨酸或谷氨酸侧链竞争时没有发现问题。Zhang 和 Tam[111]在他们环合未保护的肽片段中利用硫酯转移反应，在这个例子中，未保护的前体**275** C 端被合成为硫代酸酯**276**，而 N 端是半胱氨酸；在 pH>4 肽链通过转硫醇酯化作用关环，随后发生酰基硫氮交换得**277**。这个过程立体特异性很高，当内部存在半胱氨酸、赖氨酸或其他侧链时，都有副反应出现。令人注意的是这种方法可避免出现外消旋体，也没有检测到寡聚体。在其他方法中，最近报道了 C 端的硫代酸酯在 Ag^+ 催化下环合[112]，而 N 端的残基可以是非半胱氨酸的其他残基。

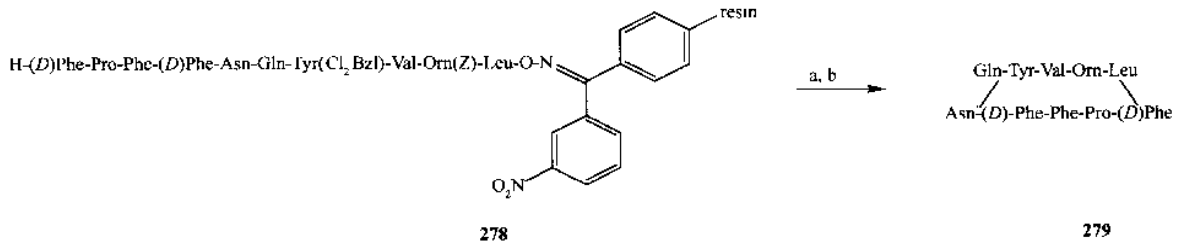


2. "在树脂"环合酰氨键

直到最近用于合成环肽的一般方法是通过片段连接途径，在溶液中多步合成或固相合成完全保护的线性前体，然后在溶液中进行大环内酰氨的环化。然而固相合成一个完全保护的线性前体，随后在树脂上环化具有令人称道的优点，因为相竞争的二聚和寡聚不会出现。同时，据认为"假稀释"效应在这个情况下会起作用[113]。新近两条通过在树脂环合用于固相环肽合成的途径特别成功。Osapny 等在使用 Kaiser 肟树脂[114]的基础上发展了一种方法。这种线性肽**278** 用 Boc 氨基酸装配，除去 N 端的 Boc 基团，用 DIEA 中和，随后用 TMSOTf/TFA 头尾环化，可同时从树脂上切下肽链**279**，如图 22-34 所示。这种方法被广泛用于制各环肽，缩酚肽(depsipeptide)用于下一步片段合成的完全保护的环肽片段[115,116]和用于形成非天然的侧链酪氨桥[117]。这个策略最近报道的一个变化是采用硫代酸酯连接第一个氨基酸，合成成线性肽，头尾关环[118]。

Alberico 等发展了一个三维保护基策略[119,120]。在这个方法中，第一个氨基酸通过天门冬氨酸或谷氨酸的 ω-羧基侧链连接于固定相。采用对烷基苯甲醇(PAC)或三烷氧基苄酰氨固定相，以烯丙基保护 α-羧基**280**。随后的氨基酸以标准的 Fmoc-碱条件偶联和脱保护，其侧链用特丁基和相应的酸敏感基团保护。环合的前体仍然在树脂上，C 端用 Pd(0)去保护，而 N 端的 Fmoc 基团脱去后用 BOP (**266**)或 PyBOP(**267**)环

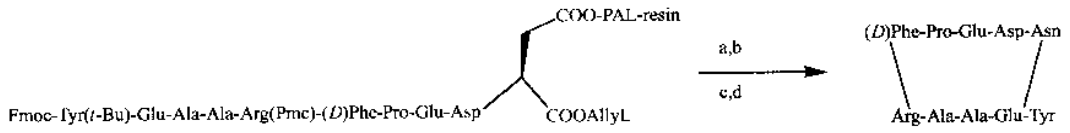
合肽链。再从 linker 上切下肽以释放 Asp/Gin(PAC 固定相)或 Asn/Gln(PAL 固定相)的侧链**281**，如图 22-35所示。这个策略被扩展到以赖氨酸的 ω-氨基挂于羧酸酯树脂上来将肽固定于其上[121]。



278　　**279**

图 22-34

a. DIEA; b. TMSOTf, TFA, thioanisole



280　　**281**

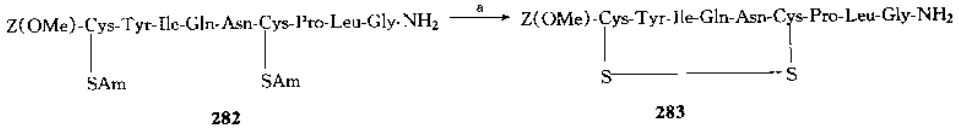
图 22-35

a. $Pd(PPh_3)_4$, DMSO/THF/0.5mol/L HCl/morpholine; b. pipendine; c. BOP (**266**), HOBt, DIEA; d. TFA, thioanisole, β-mercaptoethanol, anisole

类似地，用于在树脂环合的途径也为其他小组所报道[122,124]，这个领域已有综述发表[125,126]。在某些情况下，对固相和液相合成环肽做了对比[127,128]，发现固相方法在环合这一步中大大提高了产率。一般来说，在溶液中效果良好的大环内酰氨形成试剂，如 HATU (**268**)和 BOP(**266**)用于在树脂环合也非常有效。在最近一项关于五肽在树脂环合的研究中，报道说以 HATU 在 30min 内环合，而外消旋体少于 10%[129]。然而将 HBTU (**265**)或 TBTU 用于"在树脂"环合有张力的十肽时[130]，环合失败，其原因是由于自由氨基[131]竞争性地进攻胍试剂而形成烷基胍副产物。当前，在这些反应的影响因素被更好地了解以前，每个在树脂形成内环酰氨反应都应用几种偶合试剂小心地尝试。

3. 合成含有二硫键的环肽

含有两个半胱氨酸残基的线性肽就提供了一个以氧化生成二硫键而环合的机会。然而，很多环肽含有多个二硫键，或含有两条肽链以两个或更多此类键连接起来的，在这种情况下，定位选择性形成二硫键就是至关重要的。现已报道了多种这个问题的解决方法，可分为两大类。两个相同的侧链保护的半胱氨酸残基可以直接转化成二硫键。这种情况的经典例子是由 Kamber 等[132]所报道的用碘氧化 S-Tri 或 S-Acm 保护的半胱氨酸残基，形成二硫键。最近的氧化剂包括三氟乙酸铊用于一系列的保护基[133]和二苯亚砜/甲基三氯化硅用于 S-Acm 保护的半胱氨酸残基[134]**282**，如图 22-36 所示。另外，一个半胱氨酸残基可以被活化，如 3-硝基-2-巯基-4 氮茚衍生物(Npys)**284** [135]和另一个自由半胱氨酸残基**285** 反应，这种策略在定位选择性地合成以两个二硫键形成复二聚环肽(**287**)中非常有用[136]，如图 22-37 所示。最近两篇全面的综述[137,138]详细地介绍了定位选择性形成二硫键的试剂与策略，并给出操作步骤。



282　　**283**

图 22-36

a. $(CF_3COO)_3Tl$, TFA

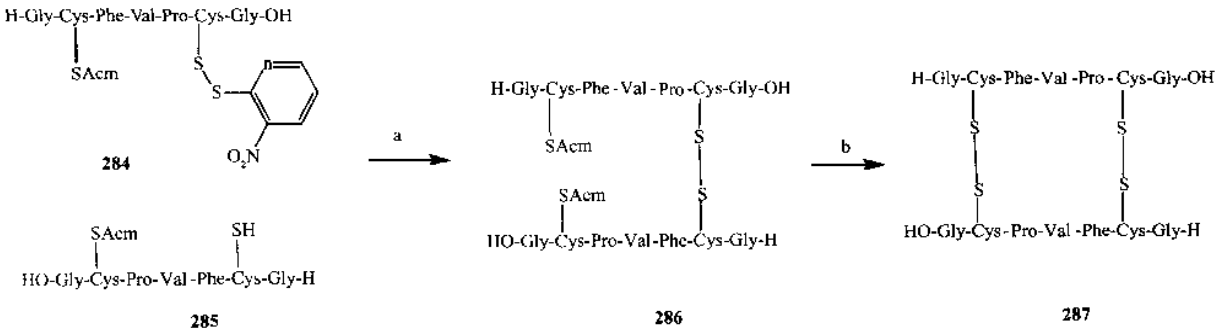


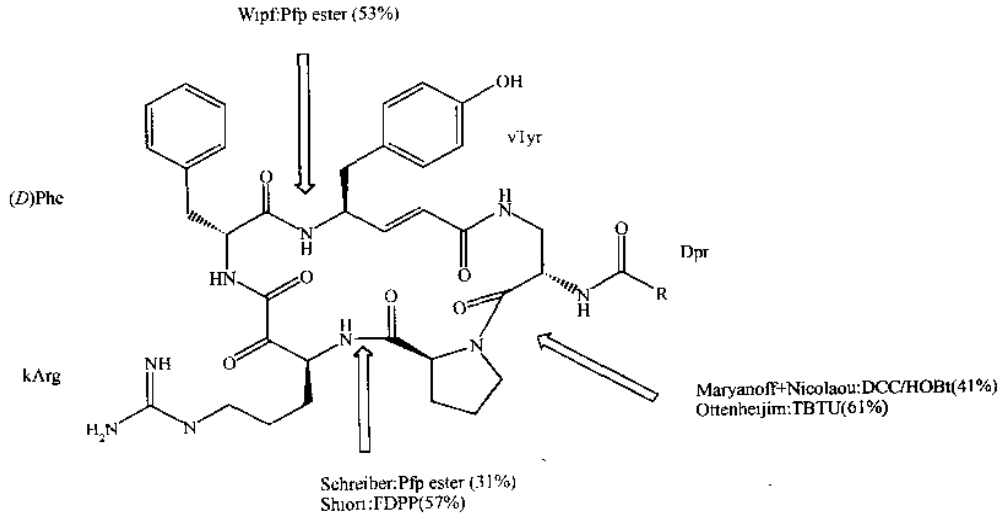
图 22-37

a. pH=6; b. I_2

二、一些重要环肽的合成途径

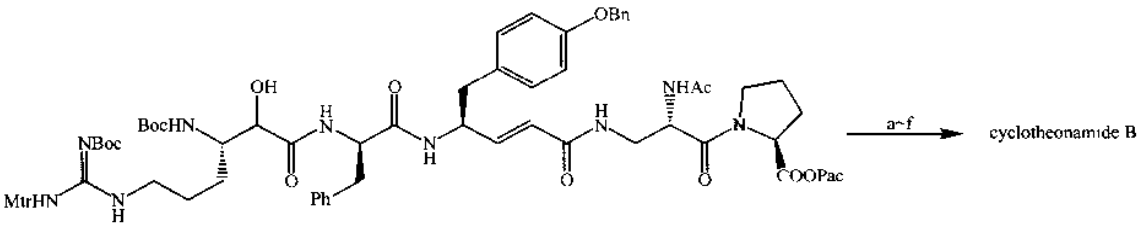
在过去 10 年中，合成了许多有重要生物活性的环肽，其中包括免疫抑制剂环抱素[139]，在这个领域 Humphrey 和 Chamberlin 做了全面的综述[85]。在此选择一些有重要生物活性和含有非蛋白氨基酸的环肽来介绍。

海绵环肽，cyclotheonamides A (**288**)和 B(**289**)是丝氨酸蛋白酶的强烈抑制剂，独特的结构包括插乙烯的酪氨酸(vTyr)和 α-酮胺精氨酸(kArg)残基。在合成中绝大多数困难来自必须保护高度亲核性的精氨酸残基以及在最后将 α-羟基酸氧化成 kArg。Hagihara 和 Schreiber[140]第一个报道了 cyclotheonamide B 通过多步偶联的合成方法，线性前体**290** 做成 kArg 侧链双保护，它的羟基未保护，通过 Pfp 酯环合，如图 22-38 所示 Dess-Martin 氧化，以很好的产率得到 α-酮胺，而后脱保护成天然产物。Wipf 和 Kim[141]通过 3 + 2 片段连接**291** 和 **292**，随后选择性地水解 THP 酯而后再用 Pfp 酯环合，接下来的氧化羟基酸有些麻烦，转化成酮胺要求升高温度，如图 22-39 所示。



288 R=H, cyclotheonamide A

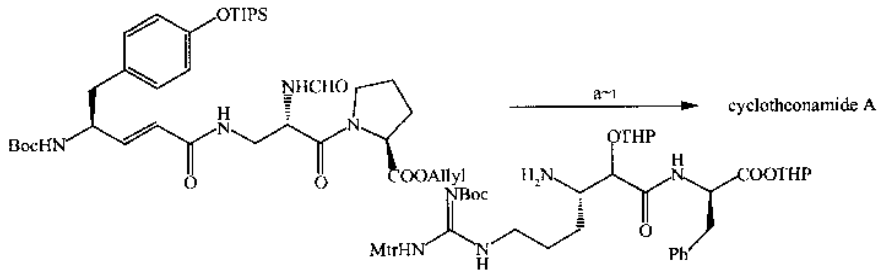
289 R=Me, cyclotheonamide B



290

图 22-38

a. Zn, AcOH; b. Pfp-OH, DCC; c. TsOH, CH_2Cl_2; d. DIEA, DMAP (31%); e. Dess-Martin periondinane (74%); f. TFA, C_6H_5SMe (58%), Pac = phenacyl



291　　**292**

图 22-39

a. $Pd(PPh_3)_4$, dimedone (87%); b. NMM, ClCO-*i*-Bu, 20℃, then **291** (76%); c. 0.05mol/L HCl; d. Pfd-OH, DCC (80%); e. sat. HCl, Et_2O/CH_2Cl_2; f. NMM (53%); g. Dess-Martin periodinane, 80℃ (74%); h. HF/pyridine; i. TFA, C_6H_5SMe (36%)

Shiori 等报道了两条用于 cyclotheonamide B 的合成途径[102,142]。其中第二条途径特别有意思，由精氨酸残基所引起的问题以在大环内酰氨形成之后胍基化的途径绕过。这样，片段**293** 和 **294** 用 DEPC 连接，偶联后的产物脱保护，而后关环，如图 22-40 所示。使用 DPPA，DEPC 或形成 Pfp 酯关环得到的结果都很差，而 FDPP 被发现效果非常出众。选择性地脱去鸟氨酸侧链的保护，胍基化，氧化脱保护得最后产物。Marynoff 和 Nicolaou 小组[97]也利用 3 + 2 片段连接方法偶联片段**295** 和 **296** 给出线性肽 **297**，仔细选择二氨基丙氨酸的 α-氨基位的保护基，以得到比较好的中间体有利于最后的环合。氧化 α-羟基酸又一次遇到问题，这是由于环肽的不利构象所造成的，如图 22-41 所示。

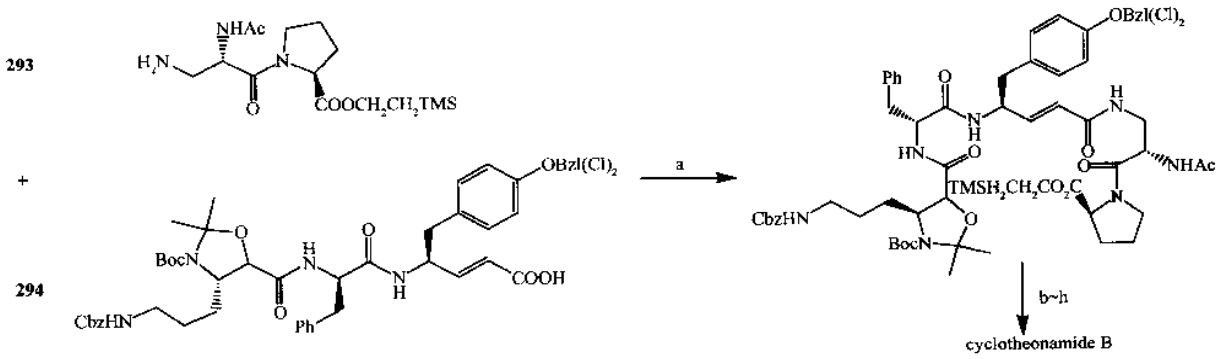


图 22-40

a. DEPC, DIEA; b. TBAF; c. TsOH; d. FDPP, DIEA; e. 31% HBr-AcOH; f. *N*, *N*′-di(*tert*-butoxycarbonyl)thourea, $HgCl_2$, Et_3N; g. Dess-Martin periodinane, 55℃; h. TFA, C_6H_5SMe

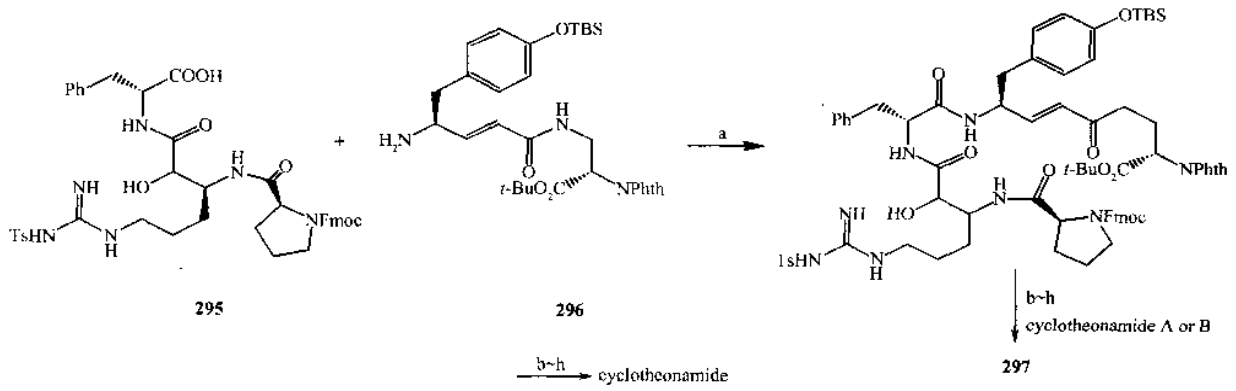
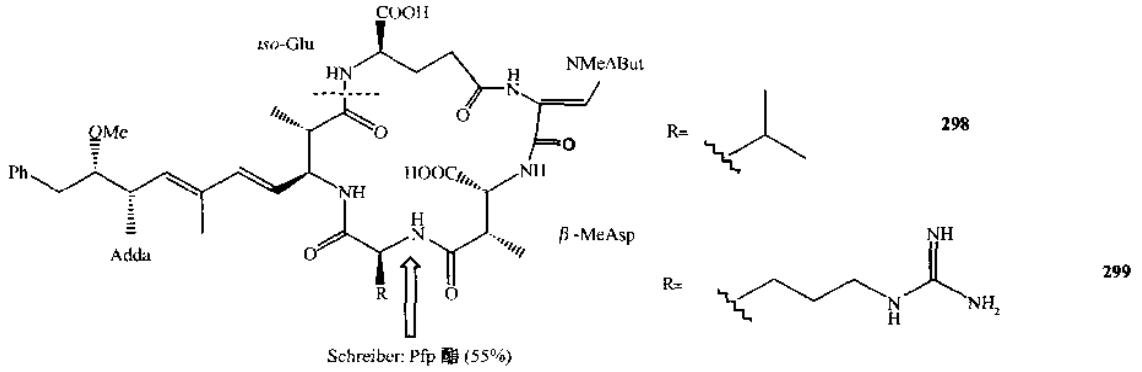
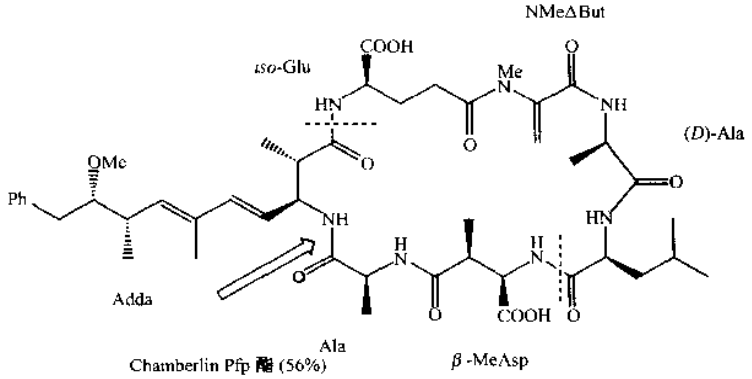


图 22-41

a. BOP-Cl, Et_3N(65%); b. Et_2NH; c. TFA; d. DCC, HOBt (41%); e. 水合肼, 2-丁烯醇(68%); f. 乙酰化或甲酰化; g. Dess-Martin 过碘物; h. HF, 苯甲醚(33%)

据报道,有很多天然产物通过抑制 Ser/Thr 磷酸酯酶中断信号传导[143]。其中包括如 motuporin (**298**)、nodularin (**299**)和 microcystin (**300**)这样的环肽结构,存在复杂氨基酸 Adda 和脱氢氨基酸是这些环肽在合成上的一个难点。Valentekovich 和 Schreiber[144]通过 3 + 2 片段途径合成 motuporin (**298**)其中断裂点选择于那些片段连接和环化时不需要活化 α-氨基酸的地方,以将外消旋化减少到最低程度,如图 22-41 所示。Adda 残基用两个部分来合成,用丁烯基锡进攻 BOM 保护的苦杏仁醛,经仔细操作,给出**302**;它和醛 **306** 偶联(从 D-苏氨酸的衍生物内酯得到),通过 Julia 成烯反应得**303**,无异构体。调节保护基,与 ValOPfp 偶联,得片段 **304**,如图 22-42 所示。内酯**305** 也被作为 β-MeAsp 残基得前体使用;标准的偶联反应给出片段**307**,其中(D)-NmeThr 残基用作已保护的 NmeΔ But 的形式,如图 22-43 所示。片段连接和大环内酰氨化都用到了 Pfp 酯方法。皂化甲酯和脱水成 NmeΔ But 残基用 $Ba(OH)_2$ 催化进行。





microcystin-LA **300**

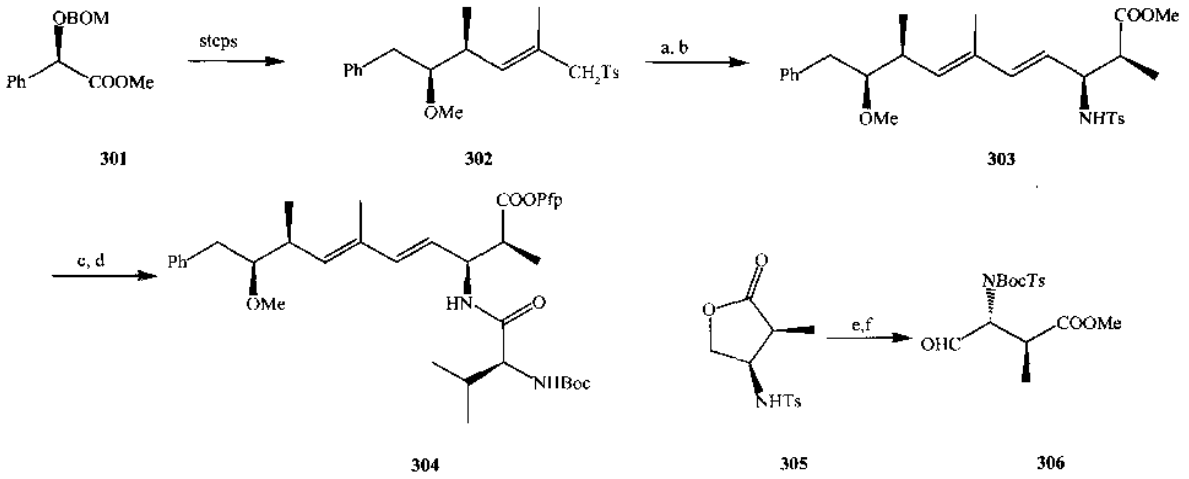


图 22-42

a.BuLi, then **306**；b.Na/萘，－78℃(65%)；c.LiOH；d.Na/萘，－78%℃；e.Boc-Val-OPfp (5 eq.)；f.Pfp-OH, DCC(45%)

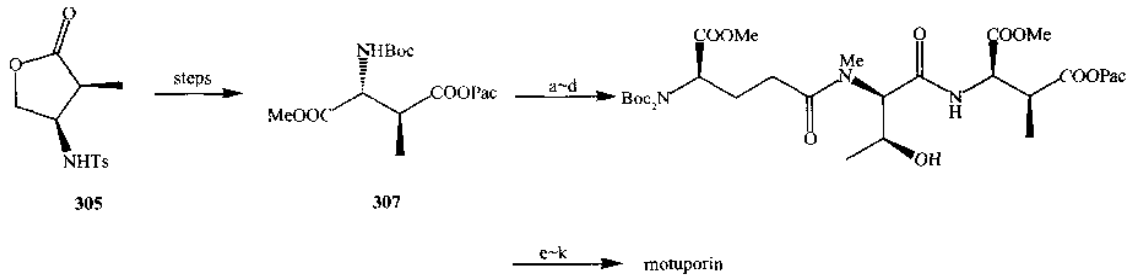


图 22-43

a.TFA/CH_2Cl_2；b.Boc-(D)N-MeThr, BOP, DIEA (88%)；c.TFA/CH_2Cl_2；d.Boc_2-(D)Glu-OMe, BOP, DIEA (80%)；e.TFA/CH_2Cl_2；f. **306**, DIEA (82%)；g.Zn, HOAc；h.Pfp-OH, DCC；i.TFA/CH_2Cl_2；j.DIEA, DMAP(55%)；k.$Ba(OH)_2$(52%)．Pac = phenacyl

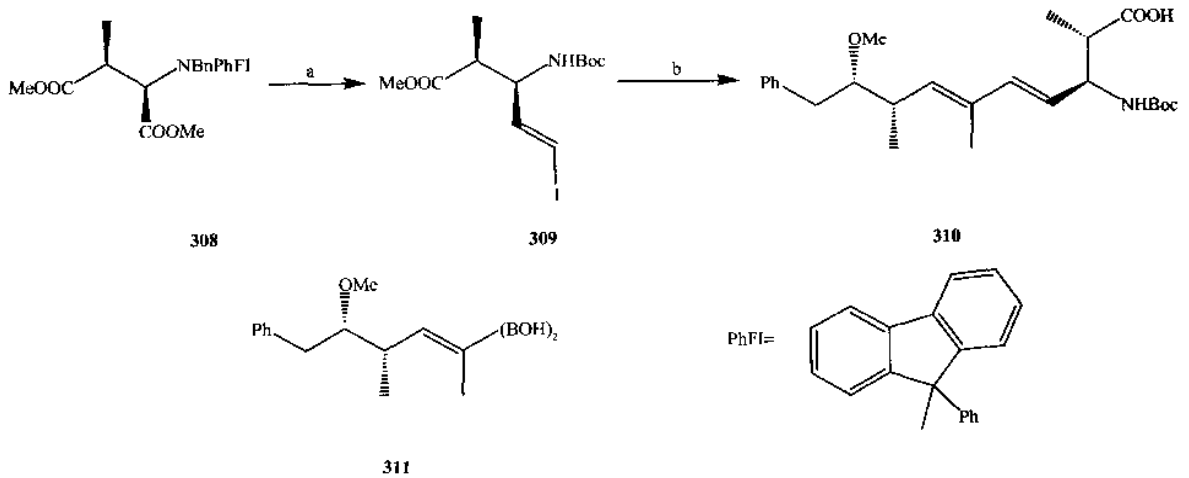
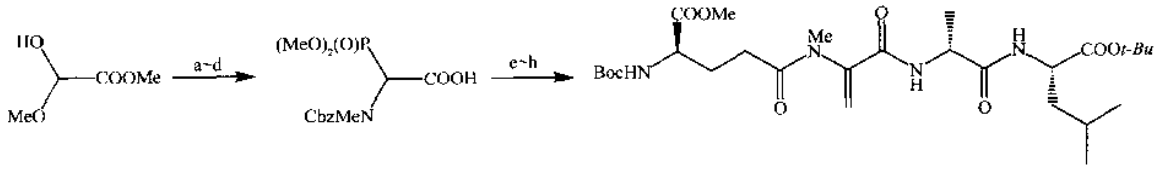


图 22-44

a. **311**, $Pd(PPh_3)_4$, TlOEt (82%)；b.LiOH (88%)

Chamberlin 等通过偶联三个片段合成 Microcystin-LA[145]。在这项工作中 Adda 残基**310** 通过 Suzuki 偶联硼化物 **311** 和碘化物 **309**(从保护了的 β-McAsp **308** 获得)[146],如图 22-44 所示。和上一例合成类似,这一次也只得到一个异构体。和合成 Motupurin 相反,NmeΔ Ala 残基在较早的阶段引入。磷酸肌氨酸衍生物 **312** 通过乙醛酸甲酯的甲基半缩醛制备,结合到肽中,通过改进的 Schmidt 反应给出片段 **313**,如图 22-45 所示。所得的脱氢氨基酸残基对以后的酸处理和亲核反应是稳定的。

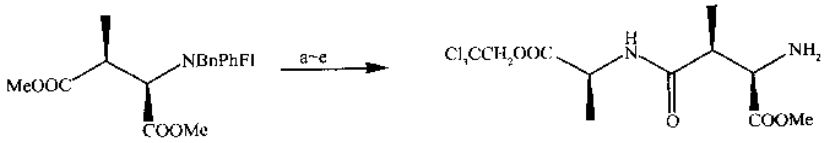


312 **313**

图 22-45

a. CbzNHMe, H^+, Et_2O(27%); b. MsCl, Et_3N; c. $P(OMe)_3$/NaI (75%); d. NaOH(98%); e. (D)Ala-Leu-O-*t*-Bu, DCC, HOBt(91%); f. H_2, Pd/C; g. Boc-Glu-OMe, HATU(**264**), DIEA; h. CH_2O, K_2CO_3(75%)

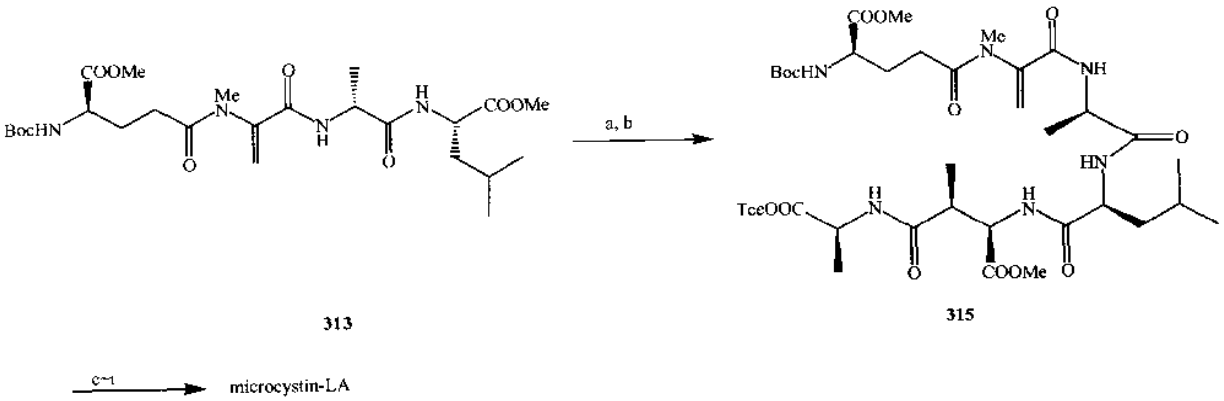
最后,调节**308** 的保护基,随后偶联成 Ala-OCH_2CCl_3的片段**314**,如图 22-46 所示。HATU (**264**)被用于所有的偶联步骤,同时在片段连接时也是非常有效的。大环内酰氨的关环选择在这个位置是因为NMeΔ Ala 残基在线性肽前体的中部引入了一个弯转因素,如图 22-47 所示。



308 **314**

图 22-46

a. LiOH(70%分离后); b. H_2, Pd/C, TFA; c. Boc_2O (88%);
d. Ala-OCH_2CCl_3, HATU (**264**), 88%; e. TFA



313 **315**

图 22-47

a. TFA, then Boc_2O (90%); b. **314**, HATU(**264**), collidine (80%); c. TFA; d. **310**, HATU, collidine (79%);
e. Zn/HOAc (64%); f. DCC, Pfp-OH (83%); g. TFA; h. $NaHCO_3$(65%); i. LiOH

有一种有趣的环状四肽,是一组真菌的代谢产物,含有(2*S*,9*S*)-2-氨基-8-羰基 9,10-环氧癸酸(Aeo)残基。它们包括 chlamydocin (**316**)和 trapoxin (**317**)主要挑战来自 Aeo 本身,它被怀疑易于被亲核进攻。所以

必须在合成最后阶段引入环氧酮结构，就像 Schimidt 在 1984 年第一次合成所做的那样[147,148]。Baldwim 等报道了 chlamydocin 的一个新合成[149]，高反应性的侧键在最后通过自由基反应引入。这样，以(S)-2-氨基-5-氯戊酸作为 Aeo 的前体，用 Pfp 酯环合，合成了四肽**318**，未发现有氨基和氯代烷基的竞争反应出现。经自由基反应，再用 TBAF 处理得到 chlamydocin，如图 22-48 所示。Schreiber 和同事[150]报道了 trapoxin 的合成。在这项工作中，Aeo 前体以中等产率从(+)-2,3-*O*-isopropylidene-L-threitol 合成，再引入到线性四肽**322**中。与以前合成 chlamydocin 不同，以 Pfp 酯合 **322** 完全无法进行。大环内酰氨化只有以 BOP 长时间地反应才以中等产率完成。这个例子深刻地说明了 Thorpe-Ingold(gem-二烷基)效应能非常有助于大环内酰氨化。Trapoxin 缺乏 gem-二烷基，所以 **322** 倾向于采用伸长的构型。这样使两个反应的端基相互远离，使环合困难，如图 22-49 所示。

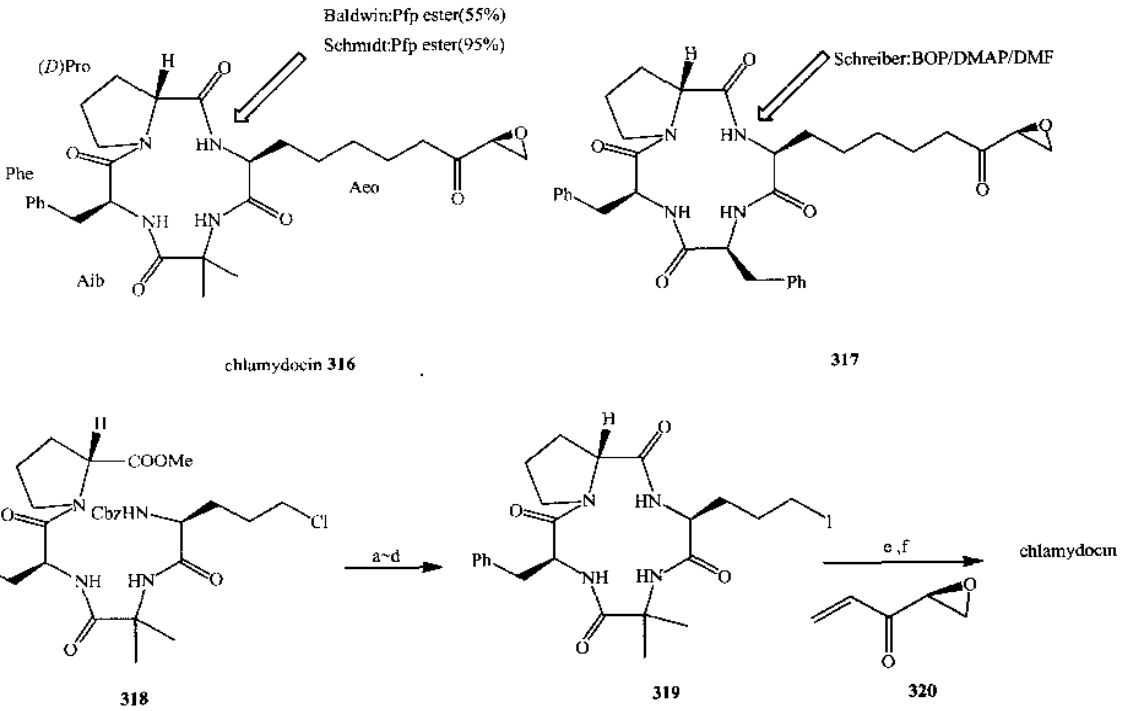


图 22-48

a.NaOH, MeOH;b.Pfp-OH, DCC;c.H_2, Pd/C, NMM, EtOH/dioxane, 95℃(55%);d.NaI(76%);
e.Bu_3SnH(3eq.) **320**,C_6H_6(60%);f.TBAF (68%)

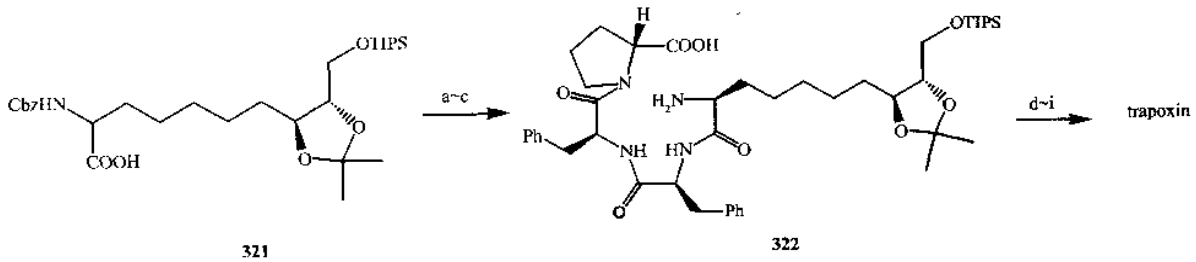


图 22-49

a.Phe-Phe-(D)-Pro-OMe, EDC, NMM, HOBt;b.LiOH;c.H_2, Pd/C(76%); d.BOP, DMAP, DMF, 25℃, 3 天;
e.TBAF (51%);f.TsCl,吡啶, DMAP;g.5% HCl;h.DBU, 0℃(60%);i.Moffat 氧化(80%)

参 考 书 目

徐任生. 天然产物化学. 科学出版社, 1993
吴毓林, 姚祝军. 现代有机合成化学. 科学出版社, 2001
Nicolaou K C E J. Classics in Total Synthesis. New York, Cambridge, Tokyo, VCH: Sorensen, Sorensen-Weinheim, 1996
Karl J Hale. The Chemical Synthesis of Natural Products. Sheffield Academic Press Ltd, 2000

参 考 文 献

[1] Corey E J et al. Tetrahedron Lett. 1985, 26: 281
[2] Adams J et al. J Am Chem Soc, 1985, 107: 464
[3] Nagaoda H et al. J Am Chem Soc, 1986, 108: 5019
[4] Suzuki M et al. J Am Chem Soc, 1986, 108: 5021
[5] Suzaki M et al. J Org Chem, 1988, 53: 286
[6] Kagan H B. Bull Soc Chim Fr, 1988, 846
[7] Scott J W. Top Streerochem, 1989, 19: 209
[8] Crosby J. Tetrahedron, 1991, 47: 4789
[9] Akutagawa S. Organic Synthesis in Japan Past Present And Future, Tokyo: Tokyo Kagaku Dozin, 1992, 75
[10] Toth J E et al. J Org Chem, 1988, 53: 4694
[11] Parker K A et al. J Am Chem Soc, 1992, 114: 9688
[12] Hong C Y et al. J Am Chem Soc, 1993, 115: 11028
[13] Trauner D et al J Org Chem, 1998, 62: 5250
[14] Woodward R B et al. J Am Chem Soc, 1954, 76: 4749
[15] Stork G. Ropert at the Ischia Advanced School of Organic Chemita Ischia Porto. Italy, 1992, September: 21
[16] Magnus P et al. J Am Chem Soc, 1992, 114: 4403
[17] Magnus P et al J Am Chem Soc, 1993, 115: 8116
[18] Kuehne M E et al. J Org Chem, 1993, 58: 7490
[19] Knight S D et al. J Am Chem Soc, 1993, 115: 9293
[20] Rawal V H et al. J Org Chem, 1994, 59: 2685
[21] Martin S F et al. J Am Chem Soc, 1996, 118: 9804
[22] Shanghai No 5 Pharmaceutical Plant et al. Scintia Sinaca, 1978, 21: 87
[23] Comins D L et al. Tetrahedron Lett, 1994, 35: 5331
[24] Comins D L et al. J Am Chem Soc, 1992, 114: 10971
[25] Ejima X et al. J Chem Soc Perkin I, 1990: 27
[26] Woodward R B et al. Tetrahedron, 1958, 2: 1
[27] Corey E J et al. J Am Chem Soc, 1980, 102: 6603
[28] 徐任生. 天然产物化学. 北京: 科学出版社, 1993: 220
[29] Bald E et al. Chem Lett, 1975, 1163
[30] Noyori R. Asymmetric Catalysis in Organic Synthesis. John Wily & Sons Inc, 1994, 96
[31] Xu X X et al. Tetrahedron, 1986, 42: 819
[32] Lee J et al. J Am Chem Soc, 1989, 111: 1522
[33] Buckanin R S et al. J Am chem Soc, 1980, 102: 1200
[34] Yang D et al. J Org Chem, 2000, 65: 2208
[35] Van Tamelen E E et al. J Am Chem Soc, 1980, 101: 5424
[36] Crisp G T et al. J Org Chem, 1992, 57: 6972
[37] 徐任生等 化学学报, 1979, 37: 289
[38] Baker W. J Chem Soc, 1933, 1381
[39] Mahal H S et al J Chem Soc, 1934, 1767
[40] Alger J et al. Proc R Irish Acad, 1934, 42B: 1
[41] Oyamada T. Bull Chem Soc Japan, 1935, 10: 182
[42] Joshi P C et al. J Chem Soc, 1934: 513
[43] Kim K S et al. Tetra Lett, 1979, 4: 331
[44] Kraus G A et al. J Org Chem, 1983, 48: 3439
[45] Cano P et al. J Org Chem, 1983, 48: 5373

[46] de Silva S O et al. J Org Chem, 1979, 44: 4802
[47] Ziegler F E et al. J Org Chem, 1978, 43: 985
[48] Bush E J et al. J Chem Soc, Perkin Trans 1, 1996, 1: 51
[49] Takeya T et al. Chem Pharm Bull, 1985, 33: 3599
[50] Marvic M et al. J Am Chem Soc, 1977, 99: 7673
[51] Ghera E et al. J Chem Soc Commun, 1978: 480
[52] Tanaka M et al. Tehahedron Lett, 1994, 35: 3733
[53] Tanaka M et al. Tetrahedron, 1995, 51: 11693
[54] Tatsuda K et al. Tetrahedron Lett, 1990, 31: 709
[55] Paterson I et al. J Am Chem Soc, 1994, 116: 11287
[56] Evans D A et al. J Am Chem Soc, 1998, 120: 5921
[57] Inanaga J et al. Bull Chem Soc Janpan, 1979, 52: 1989
[58] Houri A F et al. J Am Chem Soc, 1995, 117: 2943
[59] Xu Z et al J Am Chem Soc, 1996, 118: 10926
[60] Xu Z et al. J Am Chem Soc, 1997, 119: 10302
[61] Trost B M et al. Angew Chem, Int Ed Engl, 1997, 36: 1486
[62] Patterden G et al. Tetrahedron Lett, 1996, 37: 3501
[63] Kim Y et al. Angew Chem, Int Ed Engl. 1998, 37: 1261
[64] Smith Ⅲ A B et al. J Am Chem Soc, 1998, 120: 3935
[65] Stork G et al. J Am Chem Soc, 1967, 89: 5464
[66] Medina J C et al. J Am Chem Soc. 1988, 110: 4818
[67] Corey E J et al. J Am Chem Soc, 1995, 117: 11819
[68] Johnson W S et al. J Am Chem Soc, 1987, 109: 5852
[69] Zoretic P A et al. Tetrahedron Lett, 1991, 32: 4819
[70] Zoretic P A et al. Synth Commun, 1991, 21: 923
[71] Corey E J et al. J Am Chem Soc, 1969, 91: 5675
[72] Just G et al. Tetrahedron Lett, 1967: 2093
[73] Just G et al. J Am Chem Soc, 1969, 91: 5364
[74] Kelly R C et al. J Am Chem Soc, 1973, 95: 2746
[75] Suzuki M et al. J Am Chem Soc, 1988, 110: 4718
[76] Okamoto S et al. Tetrahedron Lett, 1987, 28: 2033
[77] Sato F et al. Synlett, 1992, 849
[78] Noyori R et al. Angew Chem, 1991, 30: 49
[79] Noyori R et al. J Organomet Chem, 1990, 382: 19
[80] Mukayama Y et al. Chem Lett, 1980: 255
[81] Midland M M et al. J Am Chem Soc, 1980, 102: 867
[82] Noyori R et al. J Am Chem Soc, 1984, 106: 6717
[83] Noyori R et al. J Am Chem Soc, 1984, 106: 6709
[84] Ohta T et al. J Org Chem, 1987, 52: 3174
[85] Humphrey J M et al. Chem Rev, 1997, 97: 2243
[86] Kopple K D. J Pharm Sci, 1972, 61: 1345
[87] Anteunis M J O et al. Bull Soc Chim Belg, 1988, 7: 281
[88] Cavelier-Frontin F et al. J Am Chem Soc, 1992, 114: 8885
[89] Brady S F et al. J Org Chem, 1979, 44: 3101
[90] Meng Q et al. Top Curr Chem, 1991, 161: 107
[91] Benoiton N L et al. Int J Pept Protein Res, 1992, 40: 559
[92] Shioiri T et al. Chem Pharm Bull, 1974, 22: 849
[93] Shioiri T et al. J Am Chem Soc, 1972, 94: 6203
[94] Schmidt U et al. J Org Chem, 1982, 47: 3261
[95] Schmidt U. Pure Appl Chem, 1986, 58: 295
[96] Tung R D et al. J Org Chem, 1986, 51: 3350
[97] Maryanoff B E et al. J Am Chem Soc, 1995, 117: 1225
[98] van der Auwera C et al. Int J Pept Protein Res, 1987, 29: 574

[99] Takuma S et al. Chem Pharm Bull, 1982, 30: 3147
[100] Chen S et al. Tetrahedron Lett, 1991, 32: 6711
[101] Dudash J et al. Synth Commun, 1993, 23: 349
[102] Deng J et al. Tetrahedron Lett, 1996, 37: 2261
[103] Knorr R et al. Tehahedron Lett, 1989, 30: 1927
[104] Castro B et al. Tetrahedron Lett, 1975, 16: 1219
[105] Coste J et al. Tetrahedron Lett, 1990, 31: 205
[106] Felix A M et al. Int J Pept Protein Res, 1988, 31: 231
[107] Ehrlich A et al. J Org Chem, 1996, 61: 8831
[108] Carpino L A. J Am Chem Soc, 1993, 115: 4397
[109] Cavelier-Frontin F et al. J Mol Struct, 1993, 286: 125
[110] Shao Y et al. Tetrahedron Lett, 1998, 39: 3911
[111] Zhang L et al. J Am Chem Soc, 1997, 119: 2363
[112] Zhang L et al. Tetrahedron Lett, 1997, 38: 4375
[113] Mazur S et al. J Am Chem Soc, 1979, 101: 677
[114] Osapay G et al. Tetrahedron Lett, 1990, 31: 6121
[115] Kapurniotu A et al. Tetrahedron Lett, 1993, 34: 7031
[116] Lee B H. Tetrahedron Lett, 1997, 38: 757
[117] Osapay G et al. J Am Chem Soc, 1990, 112: 6046
[118] Richter L S et al. Tetrahedron Lett, 1994, 35: 5547
[119] Kates S A et al. Tetrahedron Lett, 1993, 34: 1549
[120] Kates S A et al. Anal Biochem, 1993, 212: 303
[121] Alsina J A et al. Tetrahedron Lett, 1994, 35: 9633
[122] McMurray J S et al. Pept Res, 1994, 7: 195
[123] Lee J H et al. J Org Chem, 1996, 61: 3983
[124] Marsh I R et al. J Org Chem, 1997, 62: 6199
[125] Basava C et al. Peptides: Design, Synthesis and Biologcal Activity. Boston: Birkhauser, 1994, 39
[126] Fields G B. Methods in Enzymology Solide Phase Peptide Synthesis. New York: Academic Press, 1997, 289: 175
[127] Webster K L et al. Tetrahedron Lett, 1997, 38: 5716
[128] Taylor C et al. Bioorg Med Chem Lett, 1996, 6: 2107
[129] Spatola A F et al. Tetrahedron Lett, 1996, 37: 591
[130] Story S C et al. Int J Pept Protein Res, 1994, 43: 292
[131] Delforge D et al. Lett Pept Sci, 1996, 3: 89
[132] Kamber B et al. Helv Chim Acta, 1980, 63: 899
[133] Fujii N et al. Chem Pharm Bull, 1987, 35: 2339
[134] Akaji K et al. J Am Chem Soc, 1992, 114: 4137
[135] Bernatowicz M S et al. Int J Pept Protein Res, 1986, 28: 107
[136] Ruiz-Gayo M et al. J Org Chem, 1993, 58: 6319
[137] Pennington M W et al. Peptide Synthesis Protocols. Totowa, NJ: Humana Press, 1994, 35: 91
[138] Annis I et al. Methods in Enzymology, Solide Phase Peptide Synthesis. New York: Academic Press, 1997, 289: 198
[139] Colucci W J et al. J Org Chem, 1990, 55: 2895
[140] Hagihara M et al. J Am Chem Soc, 1992, 114: 6570
[141] Wipf P et al. J Org Chem, 1993, 58: 5592
[142] Deng J et al. Angew Chem, Int Ed Engl, 1994, 33: 1729
[143] MacKintosh C et al. Trends Biol Sci, 1994, 19: 444
[144] Valentekovich R J et al. J Am Chem Soc, 1995, 117: 9069
[145] Humphrey J M et al. J Am Chem Soc, 1996, 118: 11759
[146] Humphrey J M et al. J Org Chem, 1994, 59: 2467
[147] Schmidt U et al Angew Chem Int Ed Engl, 1984, 23: 318
[148] Schmidt U et al. Synthesis, 1986, 361
[149] Baldwin J E et al. Tetrahedron, 1993, 49: 7837
[150] Taunton J et al. J Am Chem Soc, 1996, 118: 10412

（段文虎）

第二十三章　天然化合物的生物合成

第一节　概　　述

天然化合物生物合成的目的主要是探讨生物体中次级代谢产物的生源途径，研究从前体经各个中间体直至形成最后产物的历程，以及有关的反应机制，进而用生物方法实现人们难以用一般化学方法完成的一些反应，进一步为现代药物化学的新药先导化合物的发现提供一仿生的研究手段，也为天然药物生物资源的可持续性发展提供一新的研究途径。

天然产物化学家的兴趣在于阐明天然化合物的结构及进行全合成，随着天然化合物的大量发现，逐渐认识到它们的一些形成规律，特别是生物碱和萜类。到 1950 年，对这些化合物的主要生源途径已有初步轮廓，但对初级代谢与次级代谢间的联系过程还不是非常清楚，甚至在今天对次级代谢的实际过程理解得还不十分精确。20 世纪 50 年代开始的同位素标记方法的应用为研究生物合成提供了一个有利工具，虽然不是惟一的信息来源，但这个方法无疑是最广泛应用的。

结构多样性的天然产物大多来源于几个基本反应和原料。初级代谢形成的几百个化合物中只有几个是构成成千上万个已知天然产物的原料，最重要的是乙酸，其次是芳香氨基酸，如色氨酸、苯丙氨酸、络氨酸及脂肪族氨基酸，如鸟氨酸和赖氨酸。此外蛋氨酸可作为甲基化试剂。大多数反应(不是全部)是有酶催化的，酶的功能只是催化，故生物合成中的反应是符合有机化学反应机制(包括立体化学机制)的。有些反应可能不是酶催化的，而是在生命体系现存条件下自发产生的；如果确是这样，这样的天然产物只能称为代谢偶然产物(metabolic accident)。

有机化学家一直对天然产物的生物合成有兴趣，首先生物合成理论有助于结构的推导，当推定结构有困难时，生物合成的假设是非常有帮助的，Robinson 对吗啡结构的推导是一个典型的实例。过去 30 年内有机化学有巨大的进展，这首先是由于物理方法特别是 X 射线衍射对结构的推定已被普遍应用。另外，放射性示踪技术已有可能确定和否定一个生物合成的假设。在最理想情况下，我们可以阐明一个长的生源途径的每一步骤，当然不可能总是很理想，因为分子在通过细胞壁转换时存在一定困难，但毕竟已有许多植物和微生物的生物合成途径已被确定。一旦生物合成途径被确定，它就可以与原先的假设相比较，当两者一致时会令人振奋不已，特别是当这个假设还能用于进一步的证实性预测。一个已建立的生物合成途径是对合成有机化学家的挑战，例如，如何模拟自然？模拟在许多情况下是可能的，但在产率和立体专一性方面还远远落后于自然。

生物合成药物学(biosynthetic pharmaceutic)是一门以现代分子生物学理论及生物技术为主导来研制药物的边缘性应用学科；它是随着 20 世纪 50 年代医学、微生物学、生物化学、分子生物学和细胞生物学等多种学科及近代生物技术的发展而逐渐从药物化学中衍生独立出来的一门新学科；而后又紧随着现代分子生物学的诞生和 DNA 重组，细胞培养技术，单克隆抗体，基因治疗等新生物技术发展而成长壮大，成为一个面向 21 世纪充满活力的生物合成药物新领域。

回顾药物发展的历史，在药物化学领域最活跃的 20 世纪 50 年代，该领域范围包括无机化学、有机合成药物、天然药物(主要是植物中提取的药物)以及微生物发酵产生的醇类、酮类、酸类、维生素类和抗生素类等药物。鉴于 20 世纪 50 年代以后科学发展到一个划时代的新阶段，生物学科开始逐步领先发展，在医药研究领域继青霉素发现之后短短十余年中雨后春笋般地相继发现了链霉素类、四环素类和大环内酯类等各种治疗传染病有特效的抗生素，并迅速投入工业生产供临床应用；同时又发现应用微生物黑根霉可以使孕酮一步转化成 11α-羟基孕酮，从而使体内含量极微的甾体激素考的松能够大量地工业化生产，实现了甾体激素的临床应用；在维生素类中，维生素 C 全合成的关键——光学活性中间体 L-山梨糖又被微生物乙酸杆菌转化研究成功合成，从而使水果蔬菜中微量的维生素 C 能人工全合成，供临床大量应用。这些发现不仅有力地促进微生物发酵制药迅速发展，同时奠定了一整套近代生物技术的基础，扩大了人们对于微生物能为人类造

福的眼界，使人们的认识不局限于抗生物质；微生物次生代谢产物中有许多极有治疗价值的药物先导化合物。借助于许多微生物转化反应(microbial transformation，即微生物酶系统的催化反应)来合成的药物和药物中间体，使许多结构复杂的生物活性物质以人工合成的途径进行工业生产。生物合成药物学就是在这样一个历史背景下发展形成的。具体来说，生物合成药物学是随着抗生素、维生素、氨基酸、核酸药物、酶和酶抑制剂等由微生物发酵代谢所产生的生物合成药物的发现，和必须由微生物转化反应来共同完成的甾体激素类药物，新青霉素和新头孢菌素等半生物合成药物(bio-semisynmethic drug)的诞生而成长的。虽然各国学科发展有差异及发展历史有所不同，但都先后建立了相应的研究机构或出版了有关书籍。例如，日本东京北里大学大村智教授曾以《微生物药物化学》为名编写出版了教科书；德国波恩大学建立了生物合成药物研究所；我国于20世纪60年代初由上海医科大学药学院创建了生物合成药物学教研室，在药物化学专业中开设了生物合成药物学课程等。

酿酒制醋是人类最早掌握的古老传统生物技术。酒和醋在古代也常作为药物用于治疗。据考古发掘证实，这些传统的古老生物技术可远溯到我国4000年以前的夏禹年代。从19世纪末到20世纪40年代，相继出现了不少工业发酵产品，开创了工业微生物的新纪元，其中不少是药品或与医药有关的产品，如乳酸、柠檬酸、甘油、葡萄糖酸、核黄素等，开创了第一代生物技术；但这些产物均属于初级代谢产物，代谢形成过程比较简单，代谢产物的化学结构和原料较简单，代谢类型大多是分解代谢兼发酵过程，这些发酵条件调控简单，大多在表面培养，设备要求不高，规模不大。20世纪40年代以后以抗生素为代表，出现了一类由次级代谢产物产生的生物合成药物，形成途径复杂，发酵周期长，产物结构较原料复杂和不稳定。绝大多数属于耗氧性发酵，通气量要求大，氧供应要求高；次级代谢途径许多是由质粒所调控，因此原始菌种的合成单位很低，但是临床需要量很大，如抗感染的抗生素和治疗上需要的大量的辅助药维生素。所以20世纪40～50年代以抗生素为首的生物合成药物工业的兴起使工业微生物的生产进入了一个新阶段：无论在菌种筛选、培养、诱变和训育，还是深层多级发酵的发酵技术，提炼技术及其设备上都克服了无数困难才形成了整套的近代生物技术，这一套近代生物技术不仅有利于工业微生物的实验室研究和工业生产，也为动植物的组织培养和细胞培养等其他生物技术提供了许多有益的经验和具体实验及设备上的借鉴，并为新的现代生物技术的诞生打了基础。

从20世纪70年代到80年代生物技术再度迅速发展，又飞跃地进入到一个现代生物技术的新纪元，形成了一个以基因工程为主导，包括微生物工程、细胞工程和酶工程的新领域，为21世纪的人类带来了非常美好的前景。这些发展了的现代生物技术主要是：重组DNA技术(technology of DNA recombination)、原生质体和原生质体融合技术(protoplast and protoplast fusion)、突变生物合成技术(technology of mutasynthesis)、淋巴细胞杂交瘤技术(technology of hybridizable lymphosarcoma)、组织培养技术(technology of tissue culture)、单克隆抗体(monoclonal antibodies)、选择性生物催化合成(selective biocatalytic synthesis)、基因治疗(gene therapy)等。

这些现代生物技术一出现就活跃于医药领域，促使生物合成药物再度飞跃式发展，并以崭新面貌展现于刚刚到来的21世纪。例如，应用DNA重组技术研制出胰岛素、生长激素、红细胞生长素和肿瘤坏死因子等各种人体活性蛋白多肽和因子来治疗各种过去难以治疗的疾病；应用细胞融合技术研制出各种单克隆抗体的诊断试剂和单克隆抗体的治疗药物，供临床快速诊断和治疗恶性肿瘤；应用基因补偿、基因纠正、代偿性基因交换和反义核酸技术等进行基因治疗，为目前无法治疗的遗传性疾病带来了希望，为治疗肿瘤和艾滋病开辟了新的途径；运用基因构建产生新的对氧利用不敏感的发酵菌种来提高能量有效利用率；转基因动物和转基因植物的研究成功地开创了新的生产体系来获得更安全、更方便、更价廉的药物，特别是儿童所喜爱的制剂及疫苗等。面向21世纪，微生物医药具有无限美好的前程。

随着医学理论研究的深入和临床治疗的发展，疾病的产生和药物的作用及其副作用的产生都要求提高到分子水平甚至电子云的效应高度来研制和应用治疗。目前，临床应用上具有高度疗效的药物都是具有高效的生理活性物质，它的分子结构在治疗上要求药品的纯度必须达到光学纯，因为它们的光学异构体(手性异构体)往往无效或疗效极低，并且毒性或副作用很强。这类具有光学活性的药物，我们称为手性药物。手性药物合成的关键是需要对映体的不对称合成，虽然在有机化学合成中也有有关不对称催化合成的方法，但都很难在工业生产上有效地应用。生物技术的飞速发展使选择性生物催化能够合成各种复杂的立体异构

体，并能够用于大规模工业生产；特别是最近免疫技术中催化抗体（catalytic antibody）即抗体酶（abzyme）的发展和DNA重组中基因构建的发展，使选择性生物催化合成能够催化合成所有有机化学方法难以完成，甚至不能做的不对称合成。

本章主要讨论海洋生物包括海洋微生物，海洋藻类，海洋无脊椎动物中一些重要次生代谢产物及其生物合成途径，以揭示在海洋特殊的生态环境中次生代谢产物的形成规律。

第二节　海洋细菌中代谢产物的生物合成

近年研究表明，海洋细菌已成为发现全新结构天然产物并进一步发展成新药先导化合物的重要生物资源[1]。丰富的新化学结构多样性和生物活性代谢产物为基因重组技术提供丰富的生物源。虽然在过去的几年中对培养海洋细菌的生物合成研究不断增加，但在生物化学和基因水平上用标记生物底物的简单培养实验研究少见报道。

Burkholder等首次报道从培养海洋细菌 *Pseudomonas bromoutilis*[2]中发现第一个高溴吡咯型海洋细菌天然产物 pentabromopseudiline（**1**）。而后用三种不同合成方法对化合物 **1** 进行合成研究[3~4]。同时，阐明了该化合物的构效关系。该化合物的含溴量高达70%。从结构上看，这种独特代谢产物的生物合成途径显然很特殊。通过多种加合标记物的细菌培养实验如加合标记的乙酸，葡萄糖和氨基酸等，结果表明化合物**1**的苯环部分是由碳水化合物衍生化形成，而吡咯环部分的生源仍未得到证明。图23-1表示在不同位置标记的^{13}C标记葡萄糖加合细菌培养实验结果。图23-2说明莽草酸（shikimic acid，**3**）在形成化合物 **1** 的苯环之前被转化成一对称中间体。进一步研究表明，该菌株不含葡萄糖降解酶即磷酸丙糖异构酶（triosephate isomerase），不能将双氢丙酮磷酸酯（dihydroxyacetone phosphate）变成甘油醛-3-磷酸酯（glyceraldehydes-3-phosphate）和磷酸烯醇丙酮酸（phosphoenolpyruvate）。此外，由于[2-^{13}C]莽草酸及其甲酯在菌株培养过程中即未参合到化合物**1**中，也未标记在另一产物生物碱 **2** 中（图23-3）。结合其他菌株[5]的研究资料分析，认为莽草酸及其甲酯没有转移到菌株 *A. luteoviolaceus* 的细胞中。故不能直接证明莽草酸是化合物**1**生物合成的中间体。但是，在菌株培养时供给对羟基-[2,3,5,6-$^2H_4$]苯甲酸和对羟基-[3,5-$^{13}C_2$]苯甲酸，发现对羟基苯甲酸高效地转移到化合物**1**的苯环片断中（85%专一性参合，图23-1）。可能是通过脱羰基后转变成化合物**1**

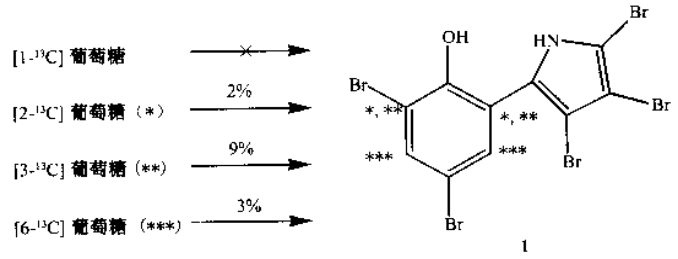


图23-1

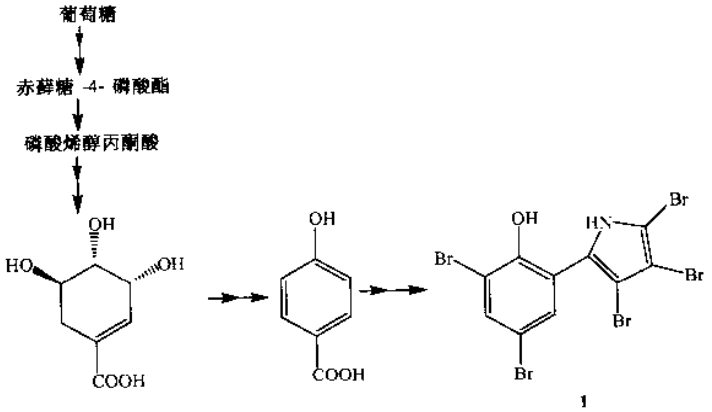


图23-2

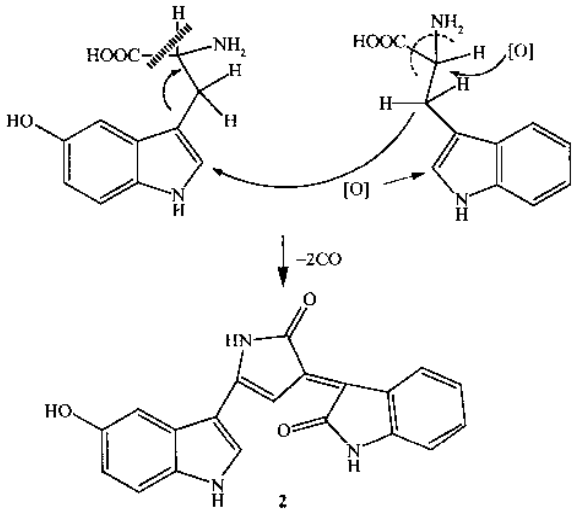


图 23-3

的苯环，而羟基是进一步取代的活性中心(图 23-2)。

Andersen 等对海水中的革氏阴性菌[6]中分离的新内酯 oncorhyncolide (**4**)进行微生物培养的生物合成研究，并对几种认为合理的生物合成途径进行了^{13}C-标记乙酸加合试验。结构**4** 中标示了所有由乙酸产生的碳原子。其中侧甲基 C-15 和 C-16 来源于乙酸酯的 C-2。这种由乙酸酯来源的甲基侧链除发现于一些细菌[7,8]，真核细菌(cyanobacterial)[9]，甲藻(dinoflagellate)[10,11]的代谢产物外，在其他生物合成中并不常见。生物合成过程包括加合丙二酸(malonate)到聚酮的酮基上形成 β-羟基乙酰酸(β-hydroxyacyl acid)中间体。在萜类生物合成中经甲瓦龙酸(mevolonic acid)进一步脱羧和脱氢失去二氧化碳(图 23-4)产生该中间体，再还原外亚甲基成甲基。通过[2-^{13}C,$^{2}H_3$]乙酸酯的加合培养实验，发现每个甲基的三个氢中的两个氢被氘代，证实了上述的生物合成途径。虽然在化合物**4** 中 C11-C14 和 C-16 五碳片断的标记形式与由甲瓦龙酸为底物单元的合成途径一致，但[2-^{13}C]甲瓦龙酸内酯并未参入到化合物**4** 中，而化合物 4 碳原子在生物合成过程中都被乙酸酯标记，说明甲瓦龙酸不是化合物 4 的生物合成的中间体。

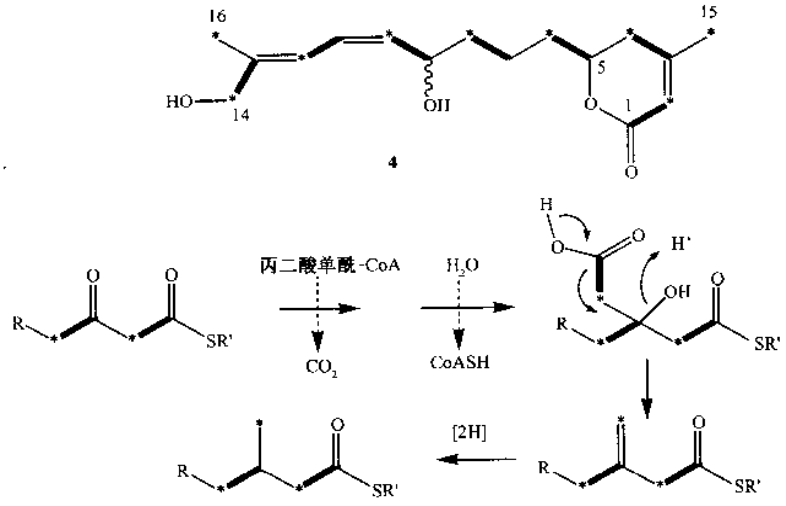


图 23-4

从阿拉斯加棘皮动物的组织中获得的海洋细菌 *Pseudomonas fluorescens* 经发酵培养，分离得到抗生素 andrimid (**5**)和同源化合物 moiramide A～C[12]。Andrimid 是第一个从细胞内共生微生物培养的代谢产物。稳定性同位素标记实验表明特殊的抗生素活性官能团酰基琥珀酰亚胺单元由乙酸酯和氨基酸建筑块组成。生物合成途径是通过丙二酸单酰-CoA 和缬氨酸(valine)的融化成相应的 γ-氨基-β-酮酸(图 23-4)；后加合甘氨酸，再结合第二个丙二酸单酰-CoA 使链延长。由两个 γ-氨基-β-酮酸推断的二肽中间体(图 23-5)。再经缩合，脱羧脱氢，并以图 23-4 相同方法还原外亚甲基，便可得到 γ-内酰胺。Andrimid 可能是以丙二酸单酰-CoA 和氨基酸为底物，通过新的混合聚酮/肽合成酶经生物合成得到。

从海藻和管蠕虫的单细胞菌中发现的抗细菌活性环肽化合物 massetolides A～H[13]和已知化合物 viscosin (**6**)[14]。该九肽环酰胺类有五个氨基酸作用位点，其中两个位点 AA4 和 AA9 是该系列化合物代谢过程中自然改变位点。用非蛋白基因氨基酸如 L-和 D-酪氨酸(buty rine)、L-和 D-正缬氨酸(norvaline)、L-和 D-叔-亮氨酸(tert-leucine)、L-环丙基丙氨酸(cyclopropylalanine)为生物合成前体，用于产生非天然的 massse-

tolide 类化合物[7~9]，以增加该系列化合物的多样性。在 AA1，AA4 和 AA9 位置上以 L-和 D-酪氨酸，L-和 D-正颉氨酸，L-和 D-叔-亮氨酸，和 L-环丙基丙氨酸取代实验，获得 massetolide 同系物 massetolide I-K。但非天然肽类的产率太低，无法进行进一步抗细菌活性测定。

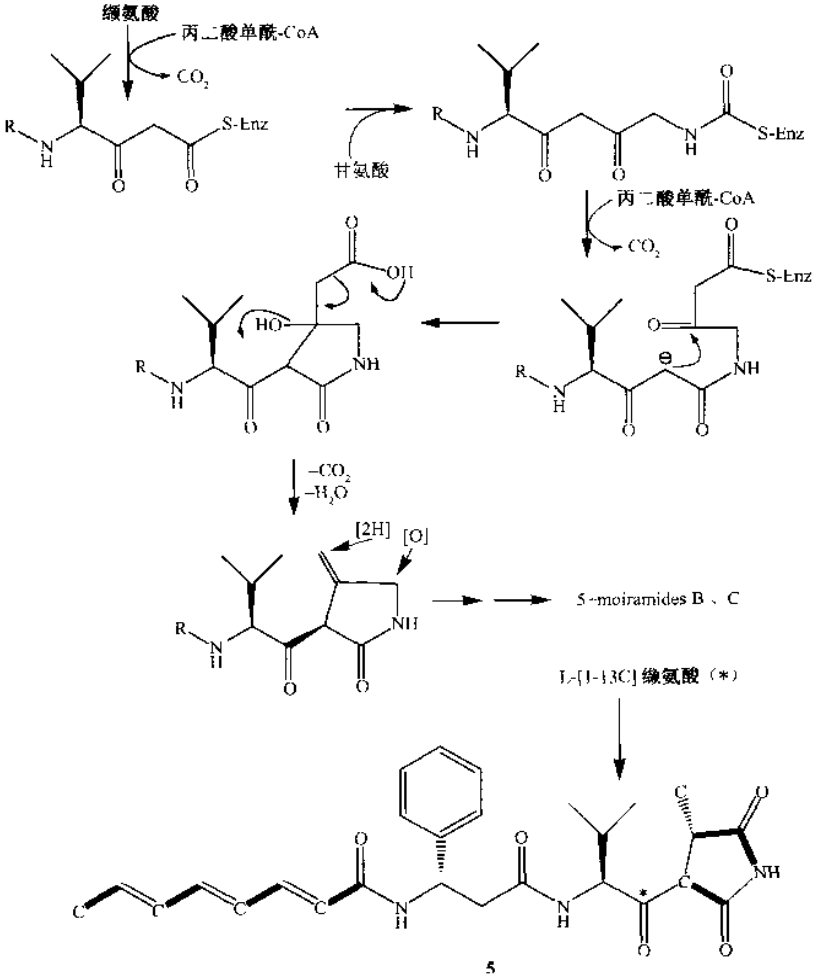
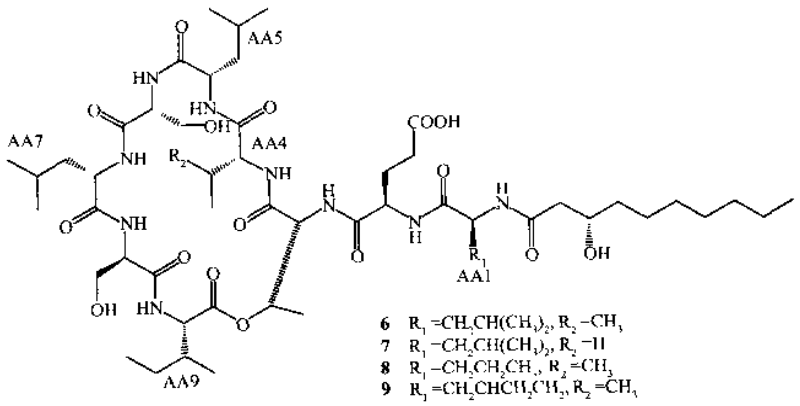


图 23-5



虽然土壤链霉菌成分的生物合成研究已有较多报道，只有两例报道海洋环境中分离得到的链霉素成分生物合成研究。双环肽 salinamide A（**10**）是一种强抗炎药物[15]和细菌 RNA 聚合酶抑制剂。产生化合物**10**的菌株 *streptornyces* sp.（CNB-091）是从冻鱼 *cassiopeia xamachana*[16]的外皮中分离得到。生物合成途径

是由非核蛋白肽(non-ribosomal peptide)合成酶的产物苏氨酸-D-异亮氨酸-对羟基苯基甘氨酸-D-甲基苯丙氨酸-D-a 苏氨酸-丝氨酸(Thr-D-Ile-Hpg-MePhe-D-aThr-Ser)经过天然化合物 salinamide E (**11**)和 C_{12}的脱甲基化的同系物(图 23-6),最终生成化合物**10**。^{13}C标记加合实验结果标明,化合物**10** 的七碳和非氨基酸片段是通过侧链氨基酸的羧酸进行单向链延长而形成。通过缬氨酸(valine)和甲基丙二酸单酰-CoA 产生异丁酯(isobutyrate),并由异丁酯转化成(2S,3S)-3-羟基-2,4-二甲戊酯单元。形成桥环的对羟基苯基甘氨酸和甘氨酸片段是异亮氨酸产物惕各酸(tiglic acid)和丙二酸单酰-CoA 的缩合产物。可通过两种途径将化合物**12** 环合成化合物 **10**。第一种方法是 Hpg 的苯酚对三员氧环(epoxide)开环,而后脱水和第二次环合成三员氧环(图 23-7a);第二种方法是在 Fe(Ⅱ)氧化酶作用下首先进行[2 + 2]环合加成,而后脱氢得到化合物**10** (图 23-7b)。这种 Fe(Ⅱ)氧化酶反应通常发生在聚醚的形成如 monensin 和 brevetoxin 和 β-内酰胺化学中[17]。

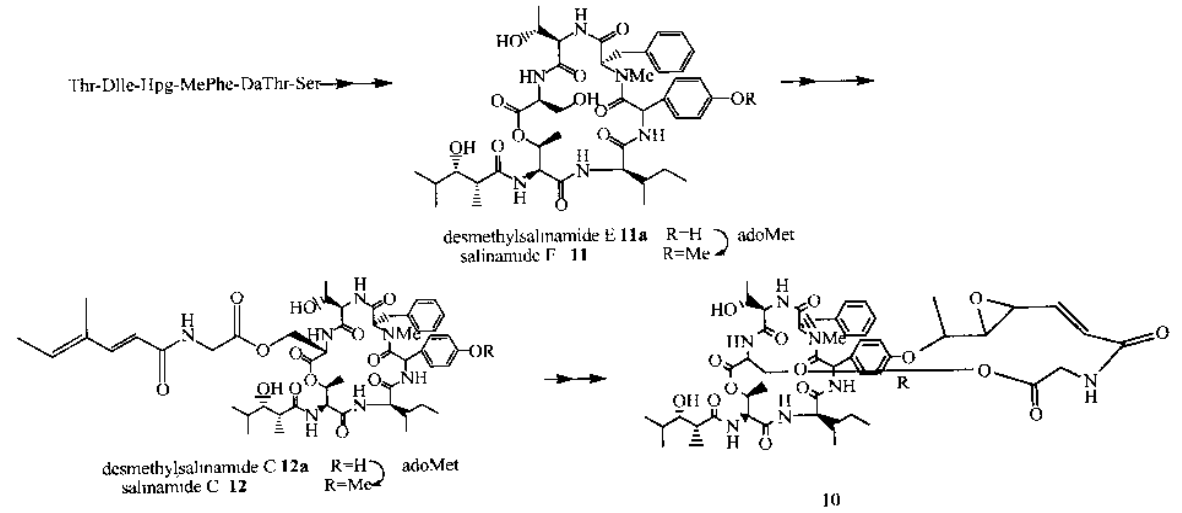


图 23-6

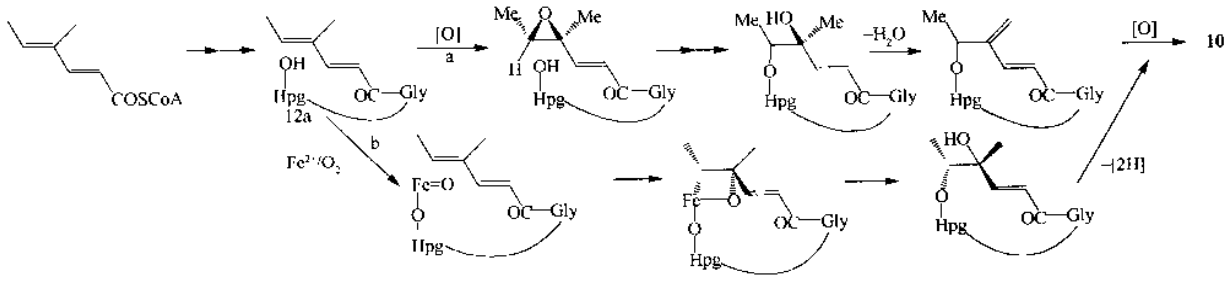


图 23-7

现代基因工程的发展改变了天然产物的领域,使我们有可能通过基因工程的途径获得新颖结构的小分子,并在异种宿主上表达功能性生物合成基因组[18]。Yazawa 等[19]首次报道在真核细菌上克隆和表达海洋细菌代谢产物。从太平洋鲭鱼的肠中分离出菌株 *shewanella putrefaciens*,其培养物产生高浓度的多不饱和 ω-3 脂肪酸即二十碳 5,8,11,14,17-五烯酸(eicosa-5,8,11,14,17-pentaenoic acid,EPA)[19]。EPA 基因组含有八个开发阅读框(open reading fram,ORF);其中三种和基因编码酶包括脂肪酸前体合成酶和碳链增长酶-致[20]。在 EPA 生物合成基因组中,除 ORF1 外,消除任何一个 ORF 都将在克隆到大肠杆菌后导致失去 EPA 产物,或不能累积代谢中间体;也进一步证明该基因组编码 EPA 的合成的关键[21]。在低温下,基因组在大肠杆菌中的融合和在菌株 *Synechococcus* 中的逆转录,EPA 的产物高于升高温度。真核细菌逆转录的 EPA 的产率低于大肠杆菌融合。EPA 生物合成基因含有它的天然启动因子(natural promoter)。所设计的在菌株 *S. putrefaciens* 中 EPA 的生物合成途径包括链的增长和棕榈酰辅酶-CoA 的有氧脱饱和度,与厌氧条件下合成 n-7 类单不饱和脂肪酸的途径有区别。

酮基类胡萝卜色素 astaxanthin（**13**）是多种微生物包括海洋细菌 *Agrobacterium aurantia cum* 和 *Alcaligenes* sp. PC-1[22]，酵母 *Phaffia rhodozyma*[23]，淡水藻和 *Haematococcus pluvialis*[24]的共生产物。一些海洋动物包括甲壳纲和大麻哈鱼等从食物中获得类胡萝卜素，以增加身体的红色泽。因此，化合物**13** 的代谢工程生产类胡萝卜，提高类胡萝卜作为鱼类和贝类的食物补充引起工业界的关注[25]。此外，化合物**13** 具有抗肿瘤，增加免疫活性，清除自由基等生物活性[26]。引起了对**13** 的代谢工程研究的兴趣。在生物化学

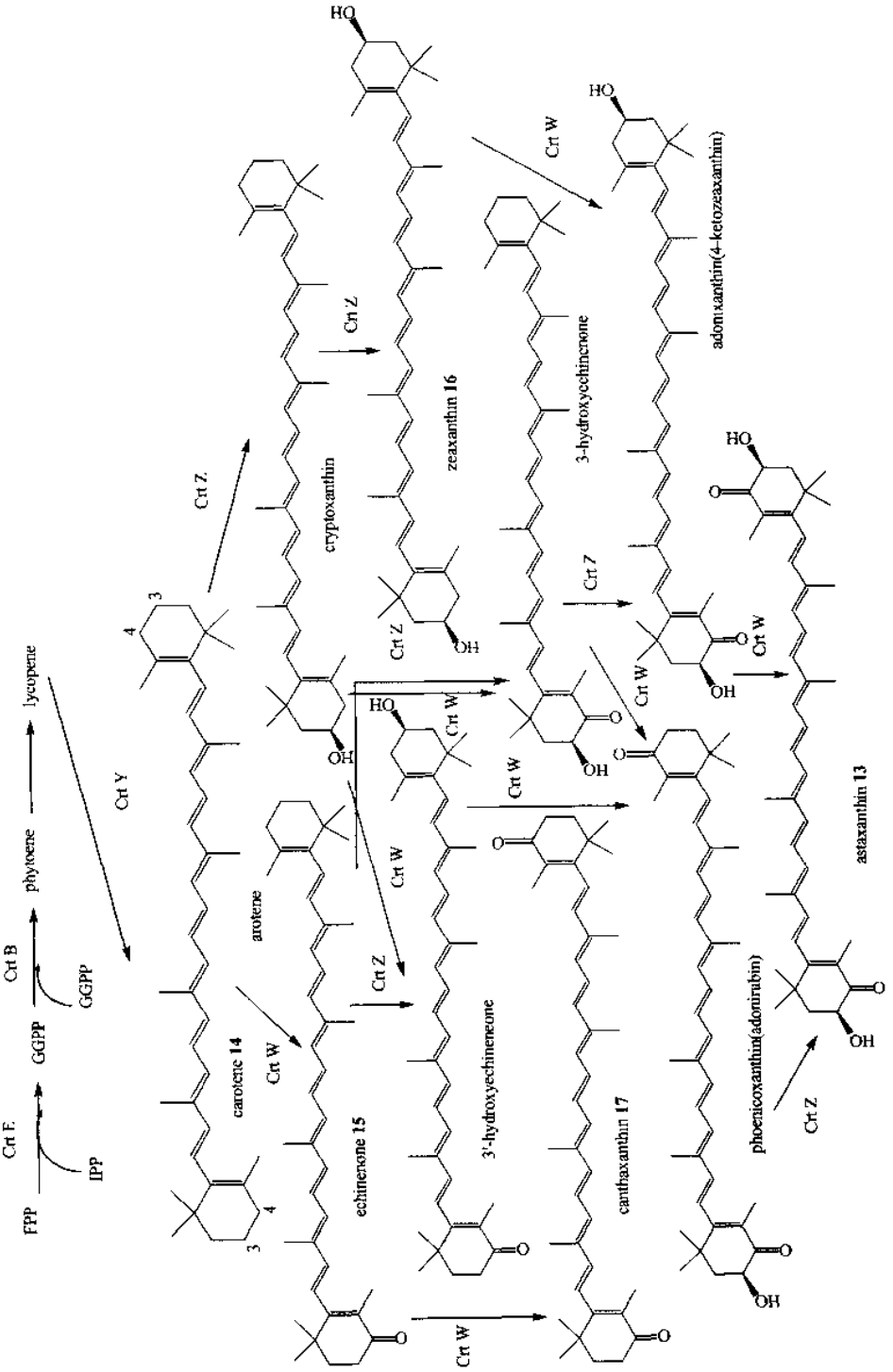


图 23-8

和基因水平上用几种微生物系统研究类胡萝卜素 carotenoids 包括化合物**13** 和它的中间体的生物合成工作已见报道[27]。菌种 *A. aurantiacum* 的类胡萝卜生物合成基因组由五种 ORF 组成，包括 *crtW*（β-胡萝卜素酮酶）、*crtZ*（β-胡萝卜素羟基酶）、*crtY*（番茄红素环合酶）、*crtI*（八羟番茄红素脱饱和酶）和 *crtB*（八羟番茄红素合成酶），并组装在 *crtWZYIB* 操纵子（operon）上[28]。在菌株 *Alcaligenes* sp. PC-1 的同源基因通过克隆杂交得以确定[29]。从海藻 *H. pluvialis* 中分离出一种 *crtW* 同系物并命名为 *crtO* 和 *bkt*[30]，它与从真核细菌 *Synechocystis* sp. PCC 68 03 分离出的非同源酮酶（ketolase）的命名一致，编码为非对称作用 β-胡萝卜素酮酶。它在 β-胡萝卜素（**14**）的两个芷香酮（ionone）环中的一个导入一个酮基生成海胆酮（echinenone）[31]。*CrtW* 的同系物 *crtR* 编码为对称作用β-胡萝卜素羟基酶，它使化合物**14** 羟基化成玉米黄素（zeaxanthin，**16**）[31]。除了细菌 *A. aurantiacum*，所有细菌 *crt* 基因组含有 *crtE* 基因，它编码为香叶基-香叶基焦磷酸（geranylgeranyl pyrophosphate，GGPP）合成酶，将法尼基焦磷酸酯（FPP）转化成 GGPP。对细菌 *Erwinia uredova*[32] 和 *Erwinia herbicola*[33] 中编码化合物**16** 及其二葡萄糖苷的类胡萝卜素生物合成基因分析，使我们对类胡萝卜素的生物合成有了初步了解。部分的基因功能是通过在不含类胡萝卜基因的异种宿主大肠杆菌中携带各种组合 *erwinia* 基因所产生的类胡萝卜素的结构分析得以阐明[32]。基因 *crt IB*、*crt I* 和 *crt Y* 从两种 GGPP 模式上编码类胡萝卜素支化点（branchpoint）中间体**14** 的合成，在功能上与细菌 *A. aurantiacum* 和 erwinia 等同（图 23-8）。进一步转化**14** 到**13** 需要在每一个芷香酮（ionone）环上加一羟基到 C-3 位和加一酮基到 C-4 位。海洋细菌的 *crtZ* 和 *crtW* 基因产物 *CrtZ* 和 *CrtW* 具有双向活性，作为广谱基质通过多种途径产生化合物**13**（图 23-8）[34]。Erwinia crtZ 基因产物在功能上与同一种海洋细菌的酶相似，但他们的底物亲缘性，如 β-胡萝卜素对 canthaxanthin（**17**）则不同[34]。Astaxanthin 和其他的已知和新类胡萝卜素已在几种不合成类胡萝卜素的宿主如大肠杆菌[28,32,35] 等及食品酵母 *Saccharomyces cerevisiae*[36,37] 等得到工程化的代谢。当用异戊烯二磷酸（isopenteryl diphosphate，IPP）异构酶在大肠杆菌中共同表达时，类胡萝卜素生物合成的转化水平提高 1.5～4.5 倍[38]。该基因在大肠杆菌中增加类异戊二烯途径的碳通量（flux）而产生 FPP。

第三节 真核细菌次生代谢产物的生物合成

真核细菌（蓝绿藻）是异类真核和光合微生物，它富含生物活性代谢产物。虽然真核微生物的天然产物化学研究十分热门[39～40]，关于它们的生物合成研究特别是海洋菌株的生物合成研究很少见报道。Shimizu 等已对淡水真核细菌 *Aphanizomenon flos-aquae* 中产生的毒素成分 saxitoxin 和 neosaxitoxin（**18**）的生物合成进行了系统的研究[1]。通过^{13}C和^{2}H标记前体的加合（feeding）实验，发现 neosaxitoxin 是经过 arginine 的 C-2 和乙酸酯的 C-1 经过 Claisen 缩合的生物合成途径得到（图 23-9）[41]。

环七肽（microcystin LR，**19**）是生长于北半球的有毒性水华 *Microcystis aeruginosa* 中附生的主要肝毒素[42]，它是强蛋白磷酸酯酶 1-型和 2A 型抑制剂[43]。Moor 等通过稳定同位素加合实验，建立了化合物**19** 中特殊的（2*S*，3*S*，8*S*，9*S*）-3-氨基-9-甲氧基-2，6，8-三甲基-10-苯基-4，6-葵二烯酸（ADDA）和（2*R*，3*S*）-3-甲基天冬氨酸（MASP）片段的生物合成途径[44]。Adda 单元的合成是通过聚乙酰衍生物（polyketide）途径包括以苯乙酰辅酶（phenylacetyl-CoA）为底物和四个丙二酸单酰辅酶（malonyl-CoA）的扩展。[1，2 $^{13}C_2$]乙酸钠通过 C-8 结合在 C-1 上；剩余的 Adda 单元骨架的碳源来源于 L（U-$^{13}C_2$）苯丙氨酸（phenylalanine）和 L-[甲基-^{13}C]蛋氨酸（methionine），它们分别标记在 2-，6-，6-甲基和 9-甲氧基上。第二种合成 C1-C2 单元的生物合成途径认为是以丙酸为底物。从海洋真核细菌 *Nodularia spumigena*[45] 获得的环五肽 nodularin（**20**）中的所有 Adda 侧链甲基由甲硫氨酸（methionine）提供[46]。化合物**19** 和 **20** 的 Masp 单元是乙酸酯（acetate）和丙酮酸酯（pyruvate）衍生物，或可能是柠苹酸（citramalic acid，**21**）的衍生物（图 23-10）。该推测的 Masp 形成方式与亮氨酸（leucine）和谷氨酸（glutamic acid）的生物合成途径相似。化合物**20** 的同系物 motuporin（[L-Val2] nodularin，**22**）是海绵 *Theonella swinhoei* 附生蓝绿藻的代谢产物[47]。许多 microcystin 的异构体及其所含的特殊和改构的氨基酸提示化合物**19** 是通过肽合成酶非核蛋白体的合成产物[48]。在菌株 *M. aeruginosa* 中当存在蛋白合成抑制剂氯霉素（chloramphenicol）时，microcystin 的合成未被抑制，证实了非核蛋白体硫代模板机制[49]。Borner 等分离并测序了 *M. aeruginosa* 中的 DNA 的一个 2982 bp 片段，即 mapepl。它编码了完

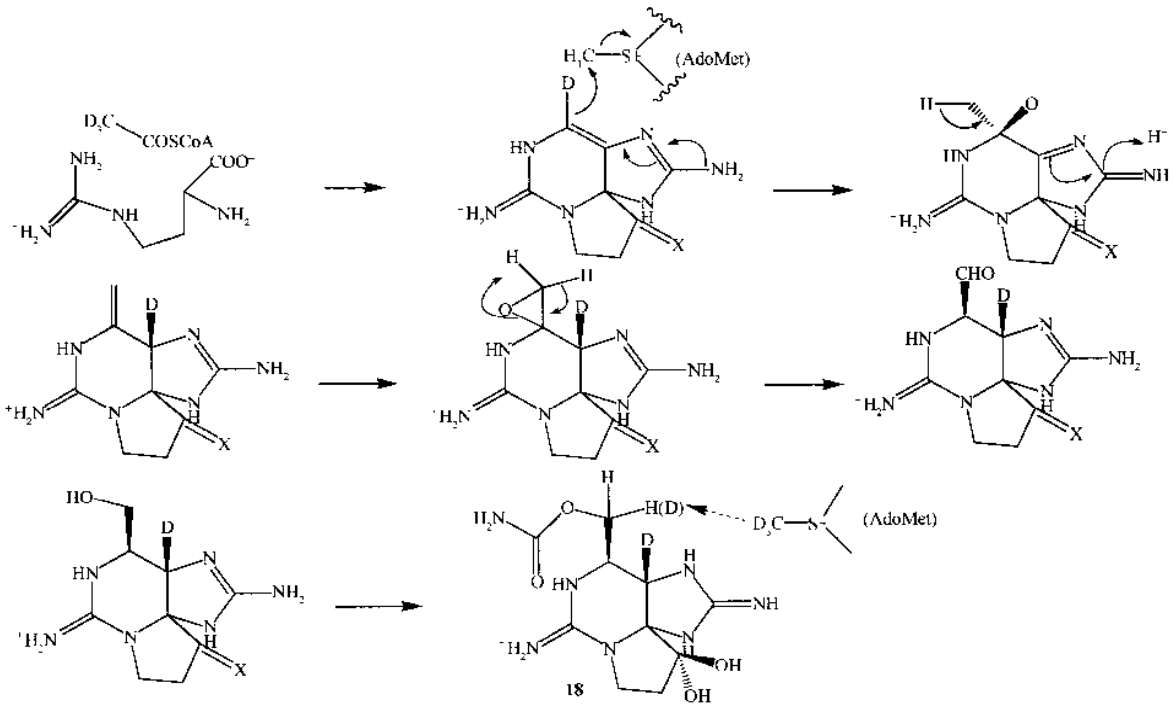
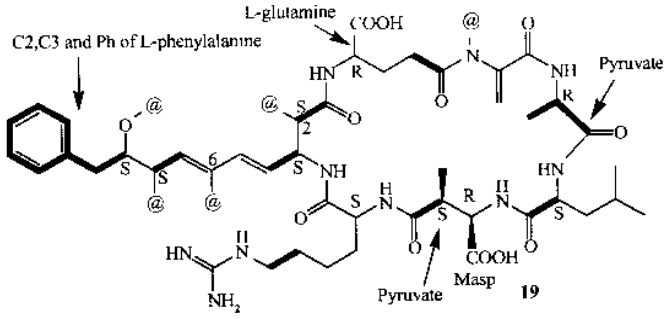
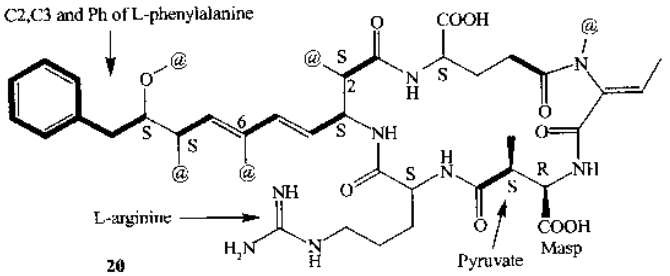


图 23-9

整的非差向异构肽合成酶模式，它从肝毒菌中专一性地杂交到 DNA[50]。DNA 的该片断融合到另一含肽合成酶基因组的模板中。通过融合重组方法用氯霉素阻断基因盒插入取代片段 mapepl 导致突变，该突变缺乏专一肽合成酶活性并且不能产生 microcystin 和**19**[51]。菌株 *M. aeruginosa* 中的该突变并不改变与**19** 分享各种氨基酸在同一菌株中产生的 cyanopeptolin 和环肽的生物合成。因此，mapepl 片段是生物合成基因组的一部分，它在 microcystin 的生物合成中编码肽合成酶配合物。这是首次报道在水华的蓝绿藻中通过融合重组的基因转移和突变。





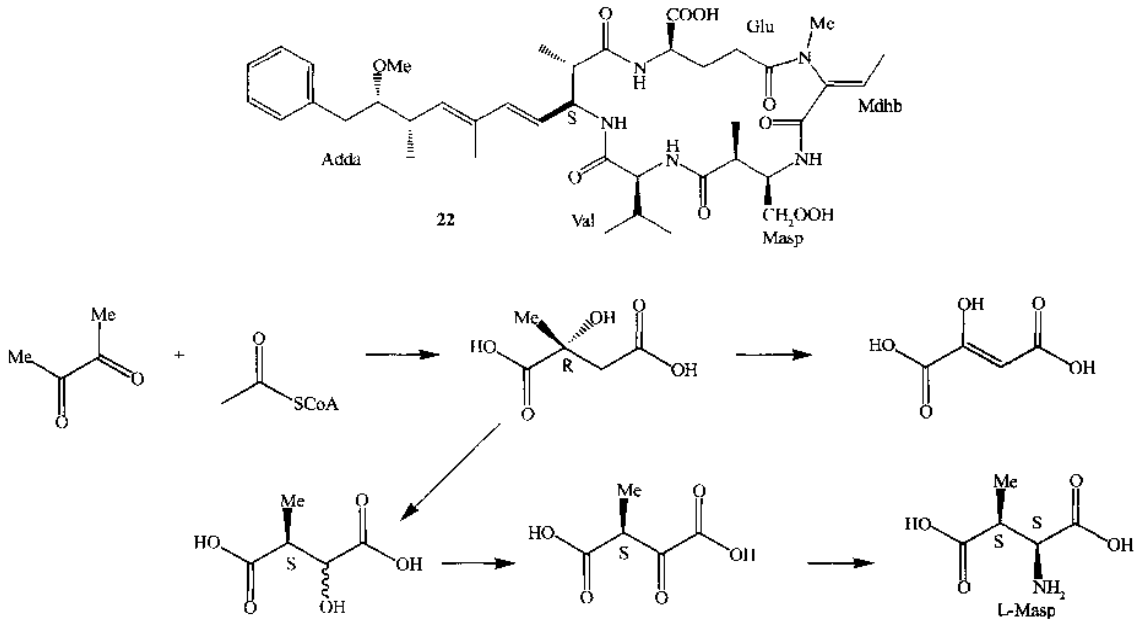


图 23-10

anatoxin-a(s)(**23**)是从淡水藻 *Anabaena flos-aqae* 中分得的含独特环合羟胍基磷酸酯的强神经毒素[52]。用稳定和放射性同位素标记前体(precursor)的加合实验证明所有**23** 中三氨基丙烷片段和胍基基团来源于 L-精氨酸(arginine),其他三个甲基碳由甲硫氨酸或四氢叶酸 C1 源(tetrahydrofolate C1 pool)产生。在转化 L-精氨酸成**23** 过程中,失去了甘氨酸单元。用[3,3,4,5,6-$^2H_5$]**24** 的加合实验验证了一个 *Anabaena flos-aqae* 中的微量成分,(2S,4S)-4-羟基精氨酸**24** 的中间体[53]。在产物**23** 中氘代原子出现在 C4 和 C5,但未出现在 C3,表明用二甲基氨基片段取代 C-甘氨酰基(C-glycyl)单元时,在中间体的 C3 位形成了酮基官能团。在 C5 位保留氘代元素表明环合过程是经过 S_N2 型反应(图 23-11)[54]。

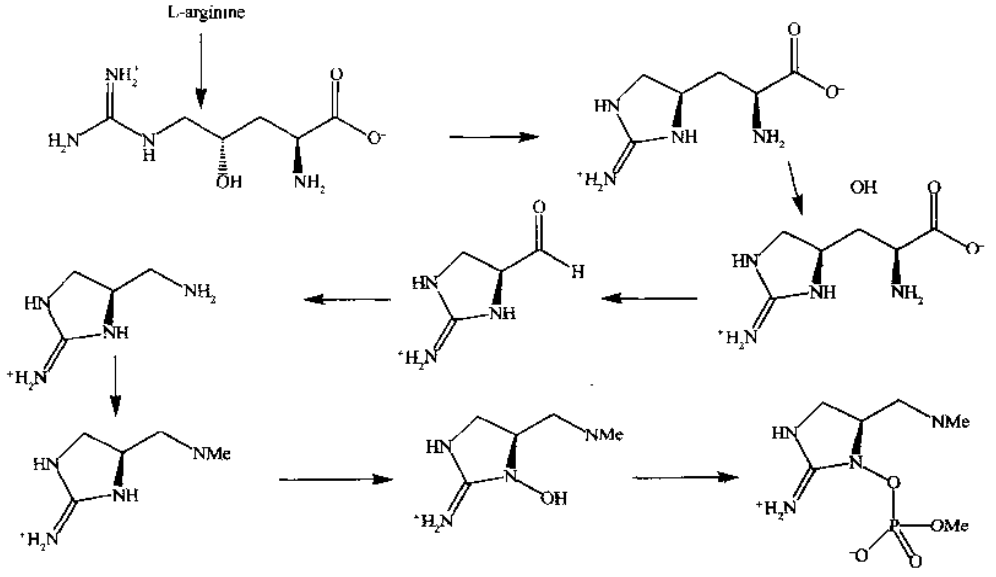


图 23-11

菌株 *Anabaena flos-aquae* 同时也代谢出与上述结构不相关的毒性生物碱 anatoxin-a (**25**)。Hemscheidt

等研究了**25** 在 *Anabaena flos-aquae* 中的生物合成及同系物 homoanatoxin-a（**26**）在菌株 *Oscillatoria formosa* 的生物合成途径[55]。根据^{13}C标记乙酸酯(acetate)和(S)-谷氨酸(glutamate)的加合实验，发现**25** 和 **26** 的吡咯环的生成与化学结构相类似的高等植物的托品烷(tropane)生物碱的生物合成途径不同。谷氨酰半缩醛(glutamic semialdehyde)被认为是三酰基(triketide)片段的生物合成前体(图 23-12)。

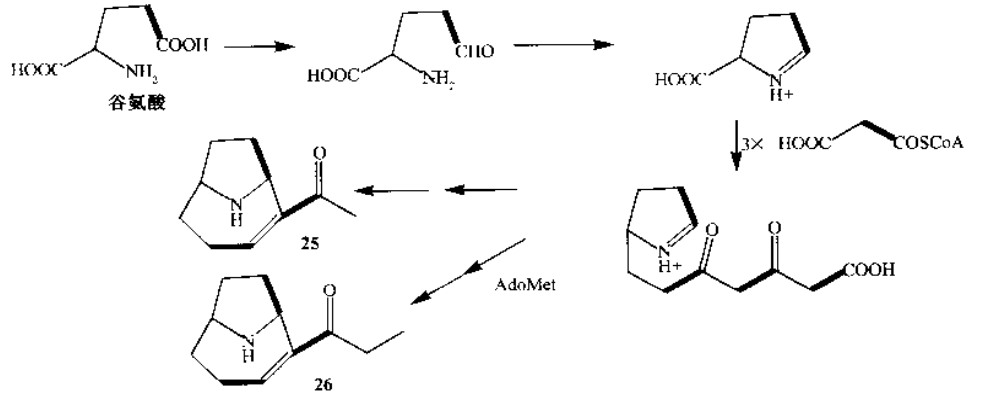
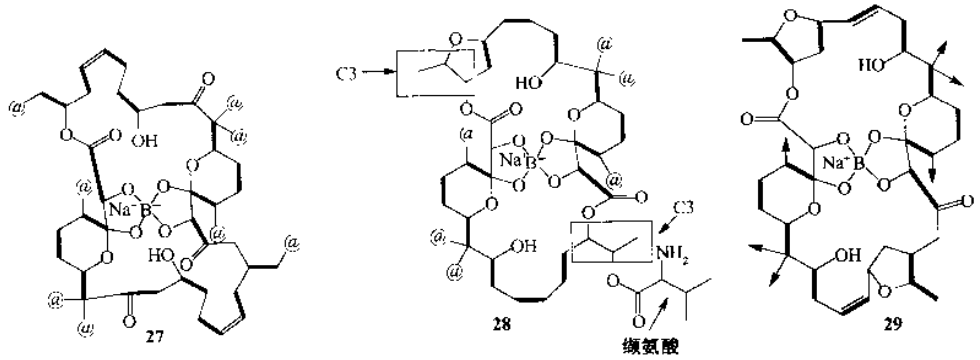


图 23-12



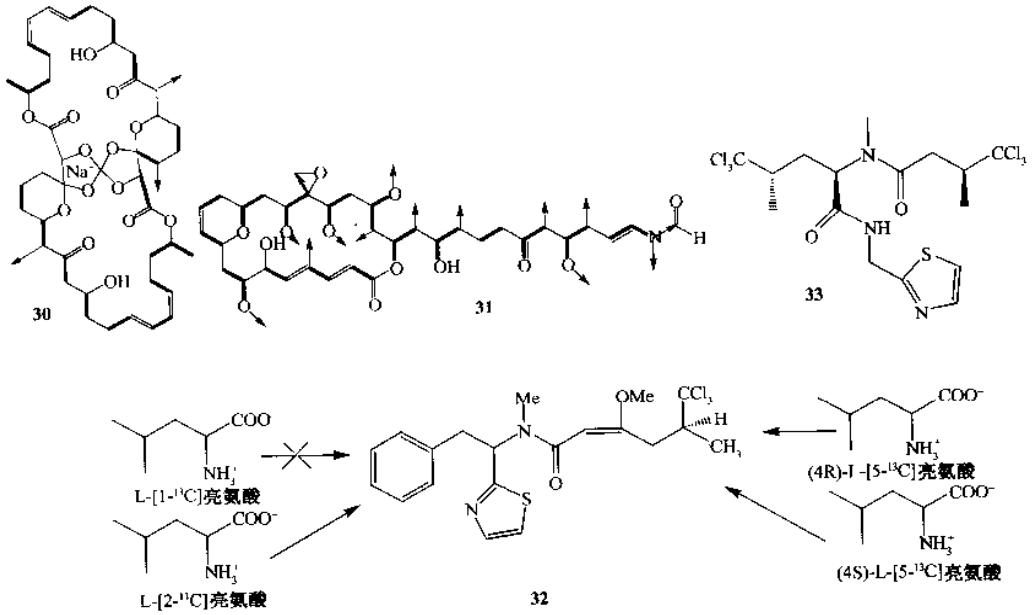


图 23-13

borophycin (**27**)是从菌株 *Nostoc linckia* 中分离得到的含硼聚乙酰衍生物。它的化学结构类似于链霉菌抗生素 boromycin (**28**)和 aplasmomycin(**29**),以及化合物 tartrolon B(**30**)。这四种离子载体(ionophore)属于乙酸酯产生的聚乙酰衍生物,其甲基部分来源于甲硫酸氨酸。在真核细菌中聚乙酰衍生物的侧甲基通常由 C-甲基化形成。链霉菌产物**28** 和 **29** 的独特之处在于大环内酯形成过程中其甲基通常由甲基丙二酸单酰-CoA提供。每一代谢产物有一特殊的 C3 始物单元。在化合物**27** 中,甲硫氨酸作为初始物单元甲基化乙酸酯,但不是丙酸(propionate),而 **28**、**29** 和 **30** 是用甘油(glycerol)产生的初始物单元如磷酸甘油酸或磷酸烯酮醇丙酮酸[56]的生物合成产物。

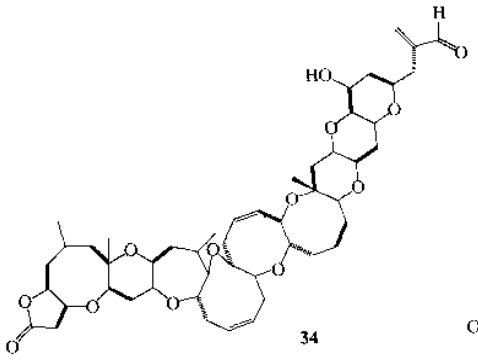
Scytophycin[57]类化合物是与从海绵、裸鳃动物,海兔中获得的天然化合物如 swinholide、bistheomide、mycalolide/misakinolide、ulapualide、kabiramide 和 mycalolide 结构特征相似的化合物。一种 scytophycin 类聚乙酰酯衍生物 tolytoxin (**31**)的生物合成途径是通过甘氨酸为起始物单元,并通过 15 个乙酸酯单元合成[58]。单碳侧链来源于四氢叶酸(tetrahydrofolate)的 C1 碳源。

Lyngbya majuscula 是一种常见的生物多样性丰富的含广谱生物活性微生物资源。Gerwick 等从加勒比菌株中分离并鉴定多种结构新颖的代谢产物,并探索了危害软体动物的代谢产物 barbamide (**32**)中三氯甲基的生成过程。图 23-13 说明了用不同^{13}C标记的 L-亮氨酸(leucine)的加合试验过程。与化合物**10** 的生物合成途径相似,亮氨酸可能降解成 3-甲基丁酰辅酶 A(3-methylbutyryl-CoA),该辅酶在丙二酸单酰辅酶(malonyl CoA)作用下进行碳链的延长合成生成 7 碳的烯醇醚(enolether)片段。氯代反应专一性地发生在亮氨酸的 S-甲基上,如同 L-[U-^{2}H]亮氨酸加合实验时亮氨酸的质子仍然保留在**32** 的 C1,C2 和 C3,氯代反应并未被双键活化,提示海绵代谢产物中含氯亮氨酸片段可能起源于真核细菌的 L-亮氨酸。Unson 等证实,氯代亮氨酸代谢产物 13-demethylisodysidenin (**33**)存在于真核细菌 *Oscillatoria spongeliae* 中,而该细菌是海绵 *Dysidea herbacea* 的共生生物。

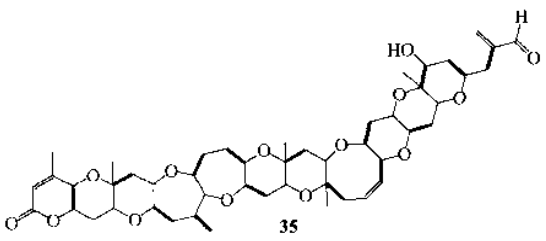
第四节 甲藻次生代谢产物的生物合成途径

甲藻的毒性水华又称"赤潮",能使大量的鱼死亡,贝类受污染,人类中毒。毒素代谢产物通常以大聚环为特征,近年引起有机化学家对其化学结构,合成和生物合成的兴趣[59]。

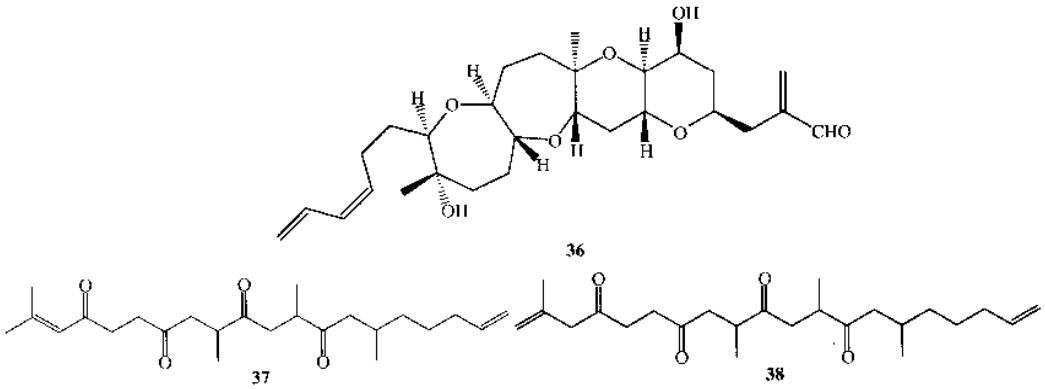
Nakanishi 等对赤潮有机物 *Gymnodinium breve* 产生的神经毒素 brevetoxin A (**34**)和 B 的生物合成进行了较系统的研究。他们的生物合成研究阐明了甲藻(dinoflagellate)中聚乙酰衍生物聚集规律的独特方式。**34** 和 **35** 的全反式系统(all-trans system)认为是从全反式链状聚烯形成的全反式环氧化物(all-trans epoxide)进行串联环氧环的开环。化合物 hemibrevetoxin (**36**)结构与 brevetoxin 的右半部分相同,其环合过程起始于在分子的右端的环氧环开环。Brevetoxin 类化合物的碳骨架经过新的聚乙酰合成酶以特殊的生物合成途径形成。用^{13}C标记乙酸酯和甲硫氨酸的加合试验结果为我们提供了一种非特征性的掺入形式,可设定从柠檬酸经乙酸酯产生的二碳酸途径是生物合成的中间体[60]。最近从甲藻 *Amphidinium* sp. 发现的奇特的 1 4-聚酮化合物 amphidinoketide Ⅰ(**37**)和Ⅱ(**38**)的结构十分相似,提示酮基的取代是通过二羧酸的缩合方式进行的[61]。但该假设的机理在 brevetoxin 体系中未被证实,因为用^{13}C和^{14}C标记琥珀酸酯(succinate),丙酸酯(propionate)和甲羟戊酸(mevalonate)的加合实验没有成功[12]。



34



35



36　　37　　38

最近，Wright 等对甲藻毒素 dinophysistoxin（DTX）族化合物中的聚醚代谢产物提出了另一种聚酮（polyketide）组装机理。该族腹泻毒性的贝类毒素包括大田软海绵酸（okadaic acid，**39**）[62]，大田软海绵酸二醇酯（okadaic acid diol ester，**40**），DTX-1，DTX-2，DTX-4 和 DTX-5A/5B，是甲藻 *dinophysis* 和 *prorocentrum* 属的代谢产物。Norte 等的实验证明在**39** 和 **41** 中的所有碳，除聚酮起始物产生的 C37 和 C38[63]，皆来源于乙酸酯[63]。大田海绵酸和其双醇的起始物完全来源于甘醇酸酯（glycolate）[64]。氧原子的来源则根据用 [1-^{13}C，$^{18}O_2$] 乙酸酯（acetate）和 [2-^{13}C，^{18}O] 甘醇酸酯标记的化合物**40** 和 **42** 的 NMR 谱中由 ^{18}O 感应的位移变化间接证明，并直接通过 $^{18}O_2$ 和 [$^{18}O_2$] 乙酸酯富集的 MS 谱分析证实。虽然这些毒素的结构与陆地的抗生素聚醚化合物如 monensin A 相似，乙酸脂标记的方式更接近于 brevetoxin，而 brevetoxin 的新生的聚酮链被乙酸脂生成的甲基碳阻断。这种标记模式提示可能通过柠檬酸途径得到生物合成中间体如琥珀酸酯（succinate）和戊二酸（glutarate）[63]。Wright 等发现在**42** 中用 [2-^{13}C] 乙酸酯标记的绝对标记量与大田软海绵酸，大田软海绵酸二醇及其侧链硫酸化物一致，提示所有从乙酸酯产生的碳原子源于相同的生物合成前体。Wright 等认为，如果大田软海绵酸/DTX 的生物合成通过柠檬酸（citric acid）途径，不可能富集同等的同位素。该结果表明其生物合成的特征是聚酮组合后重排从新生成的链上除去乙酸酯碳，并经过醛醇缩合引入侧甲基和外亚甲基（图 23-14）。此外，通过**42** 的均一富集提示 **39** 可快速转化成最终生物合成产物 **42** [65]。大田软海绵酸（C1）、大田软海绵酸二醇（C51）及其侧链硫酸化物（C66）的终端碳都通过乙酸酯单元的断裂生

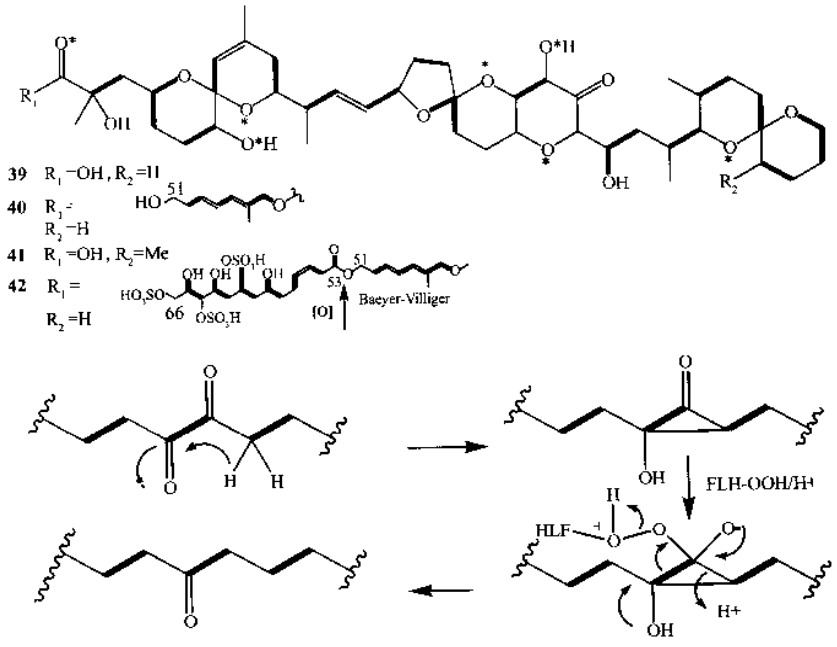


图 23-14

成。在 C-51 上氘代量比 66 少，表明它们发生不同断裂机理。Baeyer-Villiger 氧化反应在乙酸酯上产生的碳 C51 和 C53 上引入氧原子；[1-^{13}C,$^{18}O_2$]乙酸酯产生的^{18}O仅保留在酯羰基上，但未出现在二醇化合物上。根据[1,2-$^{13}C_2$]乙酸酯标记的**42** 的^{13}C-^{13}C远程偶合谱分析，C51 和 C53 来源于相同的乙酸酯单元。用相似的 Baeyer-Villigan 氧化作用可阐明其他聚酮的生物合成过程[66]。经过 Baeyer-Villigan 氧化作用或 β-氧化作用发生 C51 和 C53 的断裂。C1 羧基来源于分子中的氧原子。第三种氧化反应类型是根据乙酸酯单元在链上的断裂形式。氧化甲基碳生成 α-二酮基，再经 Favorskii 重排[67]，经黄素(flavin)单氧化酶催化环氧化，裂解环丙酮基，生成含被氧化的甲基碳的短链聚酮化合物(图 23-14)。

甲藻可能在这种特殊的氧化和消除作用机制中为聚醚合成中的环合和甲基化设计必要的氧化形式。**39** 的^{18}O原子的导入方式表明三环醚环的环合是经过 β-环氧中间体过程(图 23-15)[66]。

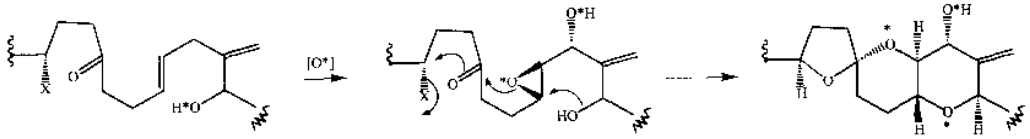
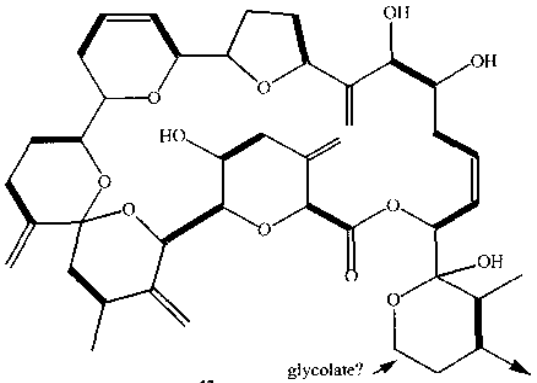


图 23-15

聚醚大环内酯(goniodomin A,**43**)是一种强抗真菌活性化合物。Murakami 等用^{13}C标记乙酸酯和甲硫氨酸(methionine)研究了化合物**43** 中碳原子的生源过程。除了甲基 C34 由甲硫酸氨产生和 35/C36 起始物单元可能由甘醇酸酯(glycolate)生成外，**43** 中其他碳起源于乙酸酯(acetate)。乙酸酯标记模式具有 brevetoxin 和 DTX 的生物合成特征，即新生成的聚酮碳链有时被乙酸酯甲基碳阻断。因此，认为在**43** 的生物合成时，或者经过柠檬酸途径的中间体，或者经过单碳消除过程。



43

amphidinolide 是类细胞毒活性大环内酯。该系列具有奇数个成环元素的大环内酯的特征，无法根据聚酮组合来解释，因此，Kobayashi 等用^{13}C标记乙酸酯实验对 15 元大环内酯(amphidinolide J，**44**)的生源合成进行了研究[68]。与甲藻中的聚醚相似，**44** 的乙酸酯标记过程中被阻断，生成奇数内酯。并认为由柠檬酸环合产生的正常聚酮单元和二羧酸前体的无序混合后成环(图 23-16)，并认为从 α-酮戊二酸(α-ketoglutarate)来源的四碳片段由一完整的乙酸酯和两个甲基碳标记；三碳片段由一个完整的乙酸酯和一个来源于琥珀酸酯(succinate)的单甲基碳组成。但是，在单独的加合实验中，没有观察到^{13}C标记的琥珀酸参合到化合物中，提示在 DTX 生物合成中碳原子的消除过程同样发生在化合物**44** 的生源合成过程中。

含锍化合物广泛分布于单细胞藻类，海洋和陆地植物等。含环丙烷锍基化合物 gongauline (**45**)是甲藻 *Gonyaulax polyedra* 的代谢产物。它在光合成甲藻时使生物荧光节律周期缩短[69]。Nakamura 等用^{13}C标记甲硫酸氨来研究化合物**45** 及其他含锍化合物的生物合成过程[70]。由于**45** 的结构与甲硫酸氨相似，推论可能是直接由甲硫酸氨的甲基化和脱氨基后环合成环丙烷。但研究结果表明甲硫酸氨并没有完全加合到 **45** 中。[甲基-^{13}C]和[2,3-$^{13}C_2$]甲硫酸氨的加合实验表明生物合成过程中失去甲硫酸氨或 S-甲基甲硫酸氨的羧基碳，但保留其余碳原子(图 23-17)。用^{13}C标记**46** 的加合实验结果表明 3-二甲基硫代丙酸(3-dimethyl-

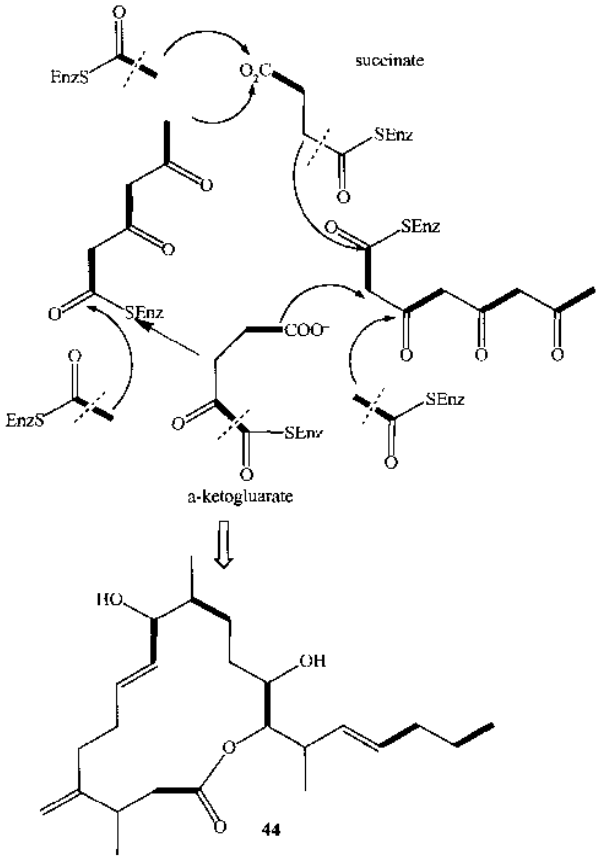


图 23-16

sulfoniopropionate，**46**)(甲藻的主要代谢产物之一)是生成**45** 的中间体[74]，而**46** 是甲硫酸氨的转化产物[71]。Hanson 等在大型绿藻 *Enteromorpha intestinalis* 中证实了**46** 的生物合成途径[72]。当在**46** 中加入$NaH^{13}CO_3$后，**45** 的羧酸碳的^{13}C元素明显提高，提示该羧酸来源于 CO_2。加入甲硫酸氨于甲藻 *G. polyedra* 培养液，化合物**47** (sulfonium gonyol)的含量提高，说明**47** 是 **46** 和乙酸酯的加合产物(图 23-17)[73]。

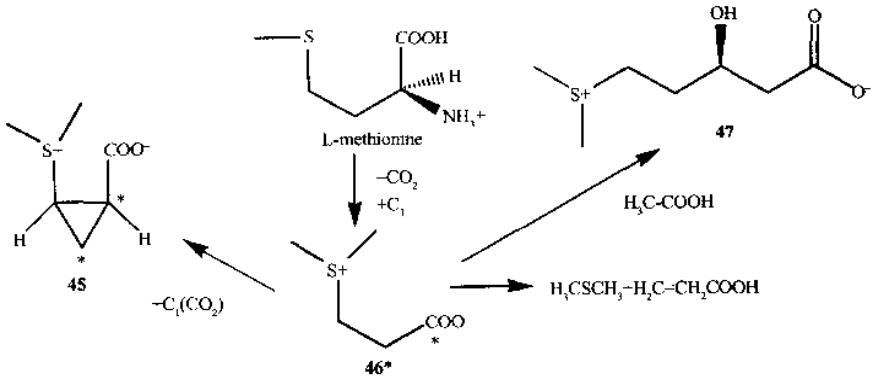


图 23-17

第五节　硅藻次生代谢产物的生物合成

虽然硅藻(diatom)是海洋中最丰富的微藻，但很少报道它的生物合成。硅藻酸(domoic acid，**48**)是硅藻

Nitzschia pungens 产生的神经兴奋性毒素[73]。用^{13}C标记乙酸酯的标记实验证明该异戊二烯型氨基酸**48** 是经过香叶基(geranyl)单元和 C5 柠檬酸(citric acid)缩合合成的(图 23-18)[74]。推断的 3-羟基谷氨酸(3-hydroxyglutamic acid)的加合水平明显高于类异戊二烯前体,表明**48** 的生物合成是通过多途径完成。海洋大型藻代谢产物 kainic acid (**49**)的化学结构与硅藻酸相似,推断可能是通过相似的合成途径即异戊烯焦磷酸(isopentenyl pyrophosphate)和普通 C_5 单元的缩合形成。该 C_5 单元前体在生物合成生物碱 lycopodine,链霉素菌抗生素 tautomycin 和 tautomycetin 实验中得到相应的证明。

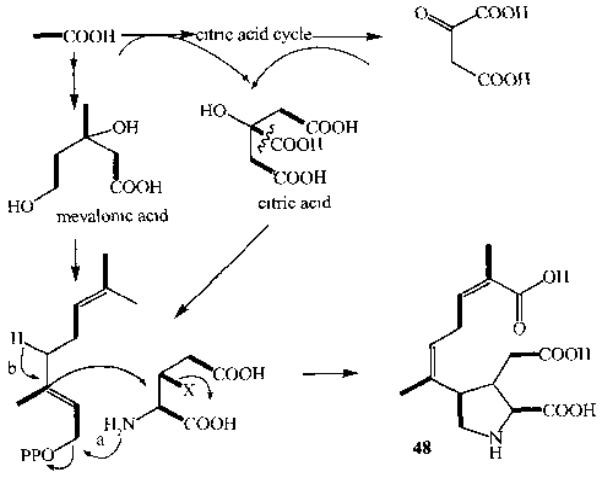


图 23-18

第六节 共生物微生物次生代谢产物的生物合成

共生微生物被认为是海洋无脊椎动物次生代谢产物的真正的生产者[75]。大量的例子表明不同品种的海洋无脊椎动物之间或无脊椎动物与培养的微生物间的天然产物的结构或相似或相同。表 23-1 例举几种海绵和海鞘与微生物代谢产物结构相关的例子。这些例子支持了许多无脊椎动物的代谢产物来源于共生微生物的假说。

表 23-1 海洋无脊椎动物和培养微生物的化学结构相关性

海洋天然产物	海洋动物来源	相关化合物	微生物来源
motuporin **22**	Sponge(*Theonella swinhoei*)	nodularin **20**	Cyanobacterium
jaspamide **50**	Sponge(*Jaspis* sp.)	chondramide D **51**	Myxobacterium
keramamide A **52**	Sponge(*Theonella* sp.)	ferintoic acid A **53**	Cyanobacterium
ecteinascidin **54**	Ascidian(*Ecteinascidia turbinate*)	safracin B **55**	Bacterium
renieramycin **56**	Sponge(*Reniera* sp.)	sfafracin B **55**	Bacterium
11-hydroxystaurosporine **57**	Ascidian(*Eudisoma* sp.)	staurosporine **58**	Bacterium
discodermide **59**	Sponge(*Discodermia dissolute*)	alteramide A **60**	Marine bacterium
lissoclinolide **61**	Ascidian(*Lissoclinum patella*)	tetrenolin **62**	Bacteria
enterocin **63**	Ascidian(*Didemmum* sp.)	enterocin (vulgamycin) **63**	Bacteria
namenamicin **64**	Ascidian(*Polysyncraton lithostrotum*)	calicheamicinrl **65**	Bacterium
sphinxolide B **66**	Sponge(*Neosiphonia superstes*)	scytophycin C **67**	Cyanobacterium
swinholide A **68**	Sponge(*Theonella swinhoei*)	scytophycin C **67**	Cyanobacterium

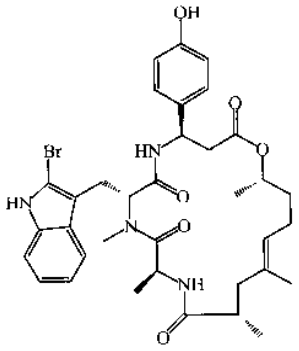
Faulkner 等的实验证明海绵细胞中生物合成的次生代谢产物也存在于海绵共生微生物中。这些实验建立了无脊椎动物-微生物共生产生天然产物的实验模型。

第一个证明海绵代谢产物存在于原核共生细胞(prokaryotic symbiont cell)的例子是亚热带海绵 *Dysidea herbacea* 和它的主要原核共生物丝状真核细菌 *Oscillatoria spongeliae*。根据化学分类,海绵分成两类:一类

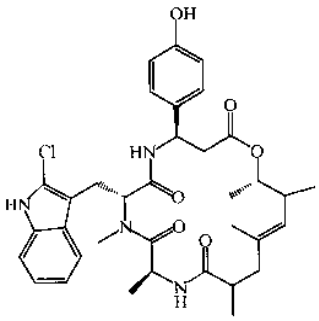
是含多氯代氨基酸产生的代谢产物和倍半萜化合物；另一类是含溴代二苯基醚。分别用流式细胞计量仪从海绵的细胞中分离出真核细菌，并对分离得到的细胞进行化学分析。从澳大利亚海绵 *D. herbacea* 的真核细菌共生体中分离得到多氯代化合物包括主要化合物 13-demethylisodysidenin(**33**)，而从海绵的细胞中仅分离得到倍半萜化合物 herbadysidolide (**69**)和 spirodysin(**70**)。因此，Faulkner 等提出该海绵中多氯代化合物是真核细菌共生物的生物合成产物，而倍半萜化合物是海绵本身的代谢产物。Garson 等也发现化合物**70** 存在于海绵 *D. herbacea* 和 *O. spongeliae* 的领细胞(choanocyte)和原始细胞(archaeocccyte)中，从真核细菌中仅分离得到氯代二酮哌嗪(diketopiperazine)。

海绵 *Dysidea herbacea* 的主要成分为 2-(2′,4′-二溴苯基)-4,6-二溴苯酚(**71**)。Fulkner 等进行相似的细胞分类实验也发现**71** 仅存在于海绵 *O. spongeliae* 的共生微生物中，海绵细胞和附生异养细菌中无化合物 **71**。这表明化合物 **71** 是真核细菌的代谢产物，不是附生异养细菌的代谢产物。另一实验是溴代二苯醚化合物 **72**，原来从 *Dysidea* 属海绵中分离得到，同时也从同一海绵中分离出的 *Vibrio* 属细菌的培养液分离得到。但培养菌的**72** 产率远低于直接从海绵中分离的含量，提示海绵附生细菌 *Vibrio* 可能不是溴代二苯醚的真正生产者。

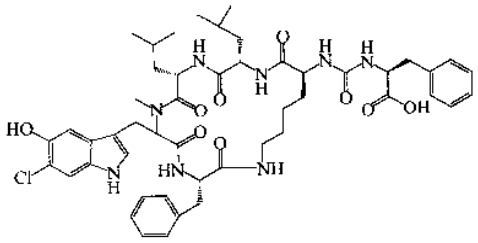
热带海绵 *Haliclona* sp. 中附生大量的甲藻，约占细胞量的 10%。该甲藻的形态与珊瑚共生物 *Symbiodinium microadriaticum* 相似，而细胞毒性生物碱 haliclonacyclamine A 和 B 只存在在海绵的细胞中，甲藻不代谢该类化合物。可能是海绵代谢这些细胞毒素以保护它在珊瑚礁上的生存。



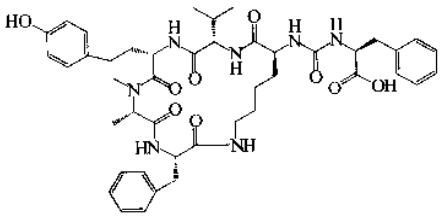
50



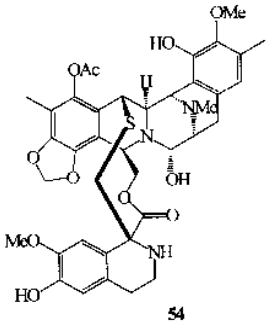
51



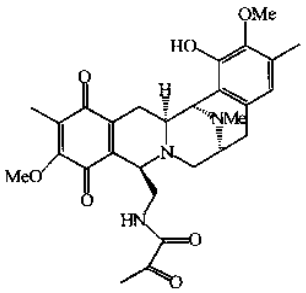
52



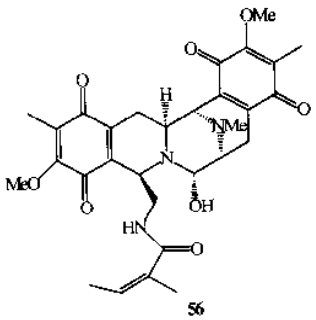
53



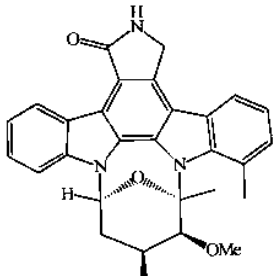
54



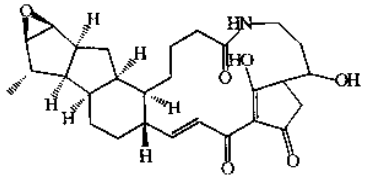
55



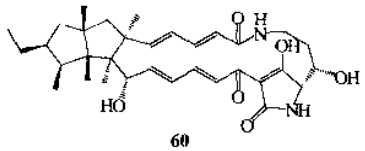
56

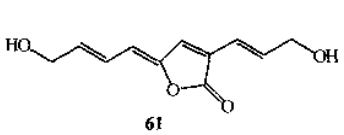


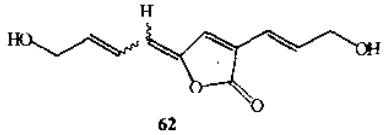
57 R=OH　NHMe
58 R=H

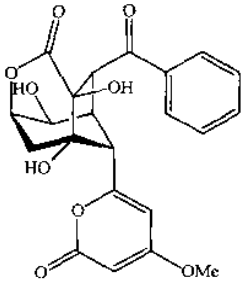


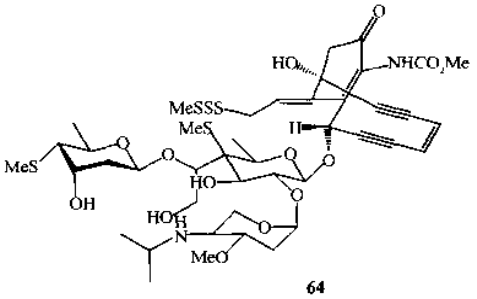
59

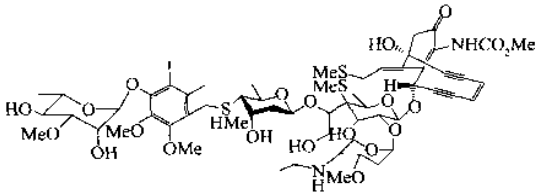

60

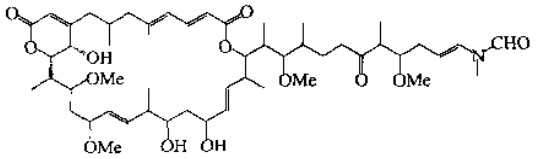

61

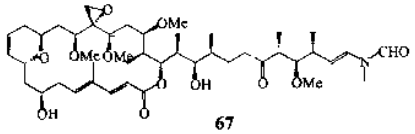

62

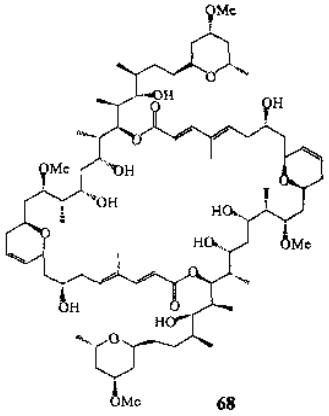

63


64


65


66


67


68

传统的甲羟戊酸(mevalonic acid)(图 23-19)途径一直被认为是生物合成萜类化合物的主要生源途径。最近的^{13}C标记实验研究表明真细胞(eubacteria)合成萜类化合物是经过另一独立的途径。该途径经过一中间体 D-1-deoxyxylulose-5-phospate(**74**)[76]。这种新的非甲羟戊酸的途径广泛存在于高等植物、微藻、真核细菌和各种细菌[77]。在大肠杆菌中该中间体和酶催化步骤分为两种反应,第一步是磷酸甘油醛(glyceraldehyde-3-phosphate)和一 C_3 单元的缩合脱 CO_2 后生成**74**;在酶催化下经一步分子内重排和还原生成 2-C-methyl-D-erythritol-4-phosphate (**75**)[78],而类异戊二烯化合物如甾体、类胡萝卜素、叶绿素的异戊二烯侧链和塑体醌则只通过甲羟戊酸的合成途径,而叶绿体异戊二烯叶绿醇(phytol)和 β-胡萝卜素是通过非甲羟戊酸途径合成。

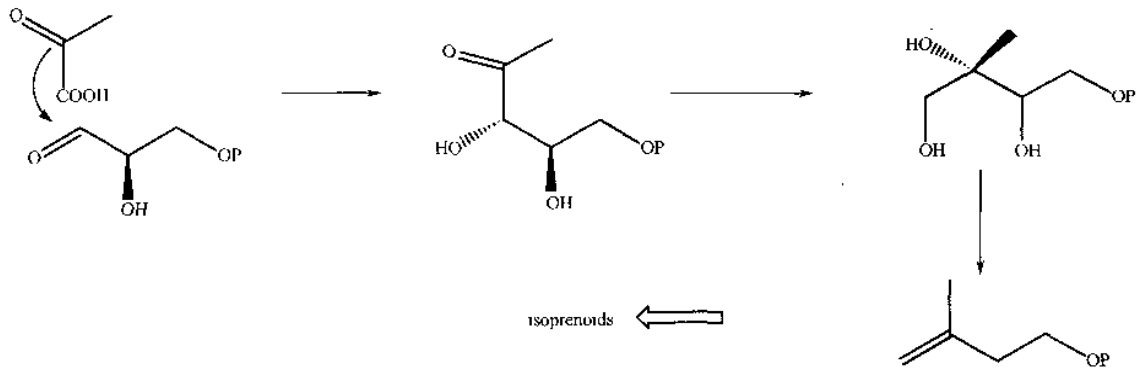


图 23-19

第七节　大型藻次生代谢产物的生物合成

海洋藻类是所谓氧代脂质体(oxylipin)的新颖结构氧化脂肪酸化合物的重要来源。根据海藻和其他海洋生物产生的氧代脂质体的化学结构可分成几种生物合成途径。Gerwick 等提出氢过氧化物产生的环氧烯丙基碳阳离子(carbocation)是氧代脂质体生物合成的主要中间体(图 23-20)。

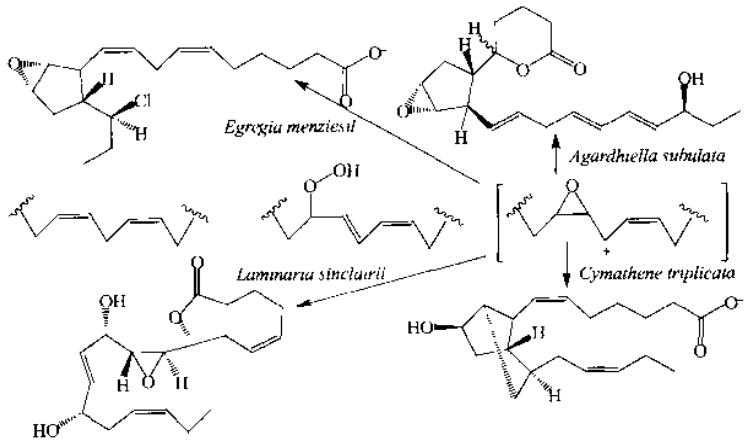


图 23-20

如上所述,含锍化合物主要分布在各种海洋微藻和大小藻中。其生物合成步骤包括 L-甲硫酸氨的氨基转移生成 4-甲硫基-2-氧丁酸(**76**);酮基还原成 4-甲硫基-2-羟基丁酸(**77**);S-甲基化成新的锍基-4-二甲基磺基-2-羟基丁酸(**78**),并进一步氧化脱羧成**45** (图 23-21)[72]。

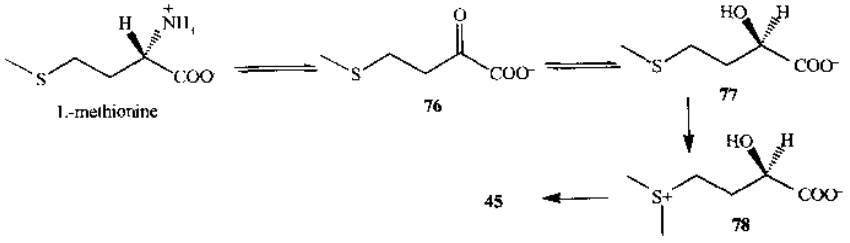


图 23-21

催化转化 L-甲硫酸氨成化合物**78** 的底物专一酶包括 2-氧代戊二酸的氨基转化酶，NADPH 还原酶，S-腺苷甲硫酸氨的甲基转化酶[72]。体内同位素跟踪实验表明上述合成的中间体实际上是**77** 和 **78** 的 D 型对映体[72]。

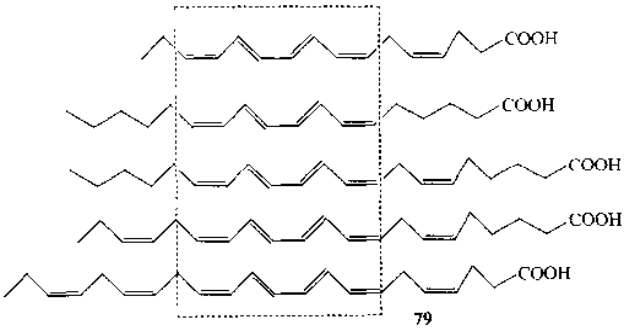


图 23-22

Gerwick 等从海藻 *Anadyomene stellata* 中获得新的含四个不饱和双键的多不饱和脂肪酸(stellaheptaenoic acid，**79**)(图 23-22)。当加入不饱和脂肪酸制备叶绿体时，发现该四烯化合物的含量提高，如加入二十二碳六烯酸(4*Z*，7*Z*，10*Z*，13*Z*，16*Z*，19*Z*)-docosahexaenoic acid (**80**)或二十二碳四烯酸(7*Z*，10*Z*，13*Z*，16*Z*)-docosatetraenoic acid (**81**)(图 23-23)，发现**79** 的含量明显提高。Gerwick 等提出在共轭四烯体系中转化 *Z* 型烯双键成一共轭 *E*，*E*-二烯是通过氧化酶催化过程，该催化反应发生在靠羧基端位置[79]。Hamberg 等已在海洋红藻 *Lithothamnion corallioides* 的非细胞体系中对共轭四烯的生物合成机制进行了深入研究[80]。

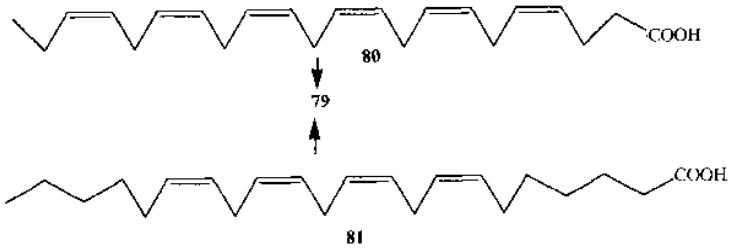


图 23-23

第八节　褐藻次生代谢产物的生物合成

海洋褐藻雌配子(female gamete)释放非环和脂环 C11 烯化学信号以吸引鞭毛雄配子。Boland 等指出该信息素来源于多不饱和 C20 脂肪酸的裂解产物[81]。^{2}H标记的天然二十碳酸 eicosanoid 和短链非天然脂肪酸的转化反应结果标明 $C_{11}H_{18}$碳氢化合物 dictyotene (**82**)是(5*Z*，8*Z*，11*Z*，14*Z*)-二十碳烯酸的转化产物，而含 $C_{11}H_{16}$的系列碳氢化合物如 ectocarpene (**83**)、multifidene(**84**)、hormosirene(**85**)、finavarrene(**86**)和 giffordene(**87**)是(5*Z*，8*Z*，11*Z*，14*Z*，17*Z*)-eicosapentaenoic acid (**88**)的转化产物。部分产物对热不稳定并经自然环合和位移反应形成热稳定化合物。如在褐藻 *Ectocarpus siliculosus* 中 **83** 的生物合成是通过化合物 divinylcyclopropane(**89**)的 Cope 重排形成[82]；**88** 在 9-脂氧化酶(9-lipoxygenase)作用下生成氢过氧化物**90**，**90** 进一步重排成 **91**，而化合物 **91** 断裂成不稳定碳氢化合物 **89**，cis-二取代环丙烷 **85**(藻信息素)和高水溶性化合物 **92** (图 23-24)[82]。

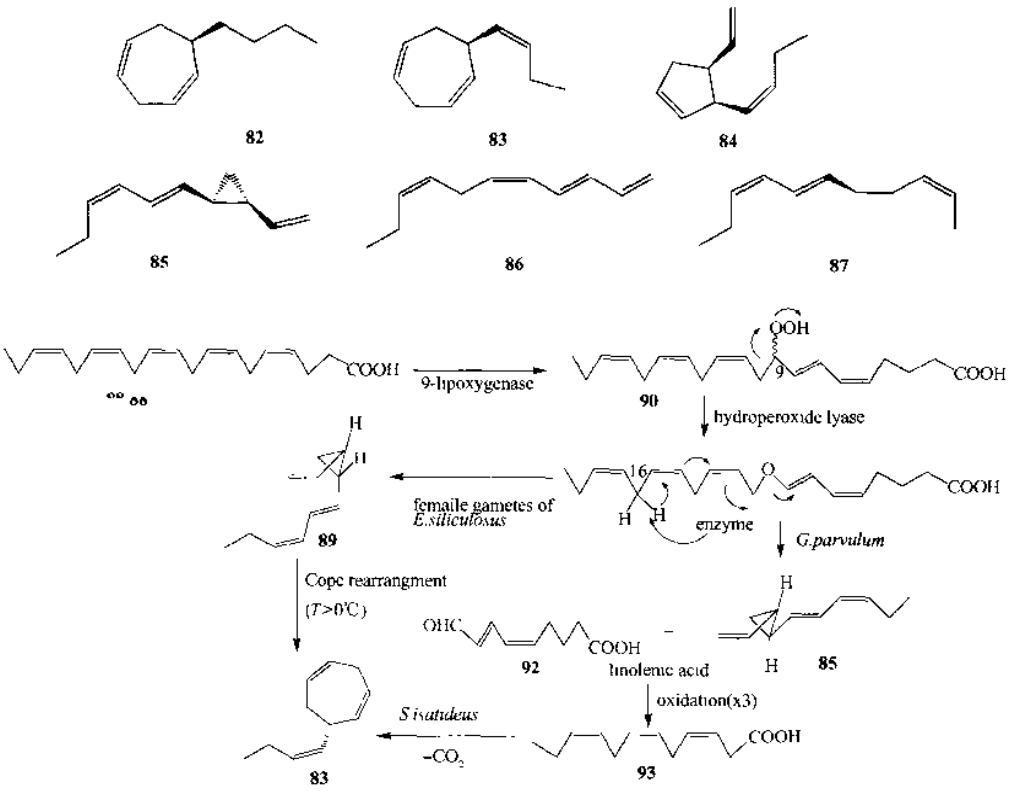


图 23-24

同样，含 C8 的碳氢化合物 fucoserratene(3*E*,5*Z*)-octa1,3,5-triene (**94**)是由 **88** 经 12-氢过氧化物中间体 **99** 的氧化裂解生成(图 23-25)[83]。**94** 是褐藻 *Fucus serratus* 的性信息素。在淡水硅藻 *Asterionella Formosa* 中研究了**94** 的生物合成过程。高度不饱和二十碳酸(5*Z*,8*Z*,11*Z*,14*Z*)-二十碳四烯-17-炔酸(**96**)和(5*Z*,8*Z*,11*Z*,14*Z*,19)-二十碳五烯-17-炔酸(**97**)是 **88** 的结构同系物，它们在硅藻 *Asterionella Formosa* 中转化成 **94** 的同系物(3*E*)-八碳-1,3 二烯-5 炔(**98**)和(3*E*)-八碳-1,5,7-三烯-3 炔(**99**)(图 23-26)[83]。该实验表明**88** 是 **94** 的天然前体并且在氢过氧化物裂解酶的作用下经过 **95** 的合成途径生成 **94** 和高极性化合物 **100**（图 23-25)。**100** 的结构与对抗剂 **92** 相似，并在硅藻和其他藻中起与 **92** 相同的作用[83]。

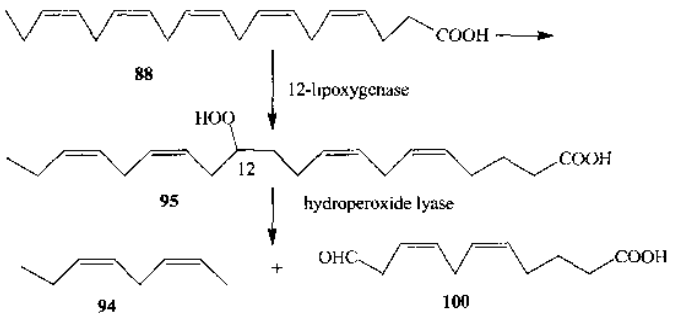


图 23-25

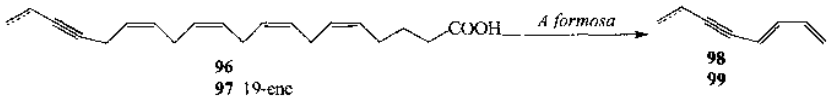


图 23-26

非环合 C11 四烯化合物**87** 是褐藻 *Giffordia mitchellae* 的一主要代谢产物。它是热不稳定化合物(1,3*Z*,5*Z*,8*Z*)-undecatetraene (**101**)中间体反面[1,7]-位移氢位移产物(图 23-27)。该重排认为是非酶催化的天然反应。C9 碳氢化合物 7-methylcycloocta-1,3,5-triene (**102**)是褐藻中的微量成分,它是化合物 **103** 经另一种全环合反应的产物。化合物(3*Z*,5*Z*,7*Z*)-nona-1,3,5,7-tetraene (**103**)是脂肪酸氢过氧化物的裂解再 8πe 电子环的环合的产物(图 23-27)。在常温下,合成**103** 的半衰期仅几分钟,而且 8πe 电子环合的活性能量很低。NMR 研究表明,单环化合物**102** 是存在的惟一异构体,没有发现双环的环六烷二烯平衡中间体。

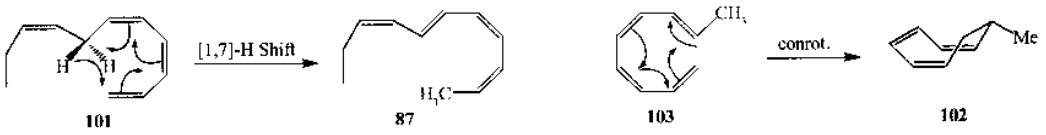
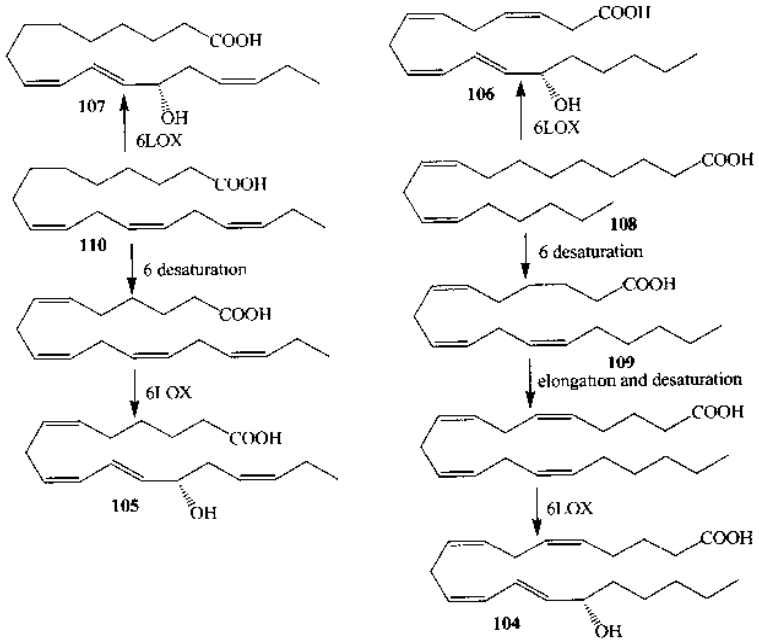


图 23-27

Laminaria 属大型褐藻是二烯醚和羟基脂肪酸的宿主,这些化合物推测是 ω-6 脂氧化酶(LOX)的代谢产物。褐藻 *Laminaria saccharina* 配子体细胞培养液产生三种由 ω-6 氧化生成的单羟基脂肪酸,即(15*S*)-羟基二十碳四烯酸(5*Z*,8*Z*,11*Z*,13*E*)-[(15*S*)-hydroxyeicosa-5,8,11,13-tetraenoic acid (**104**)、(13*S*)-羟基十八碳四烯酸(6*Z*,9*Z*,11*E*,15*Z*)-(13*S*)-hydroxy octadeca-6,9,11,15-tetraenoic acid (**105**)和(13*S*)-羟基十八碳二烯酸(9*Z*,11*E*)-(13*S*)-hydroxy octadeca-9,11-dienoic acid (**106**);二孢子体中含有(13*S*)-羟基十八碳三烯酸(9*Z*,11*E*,15*Z*)-(13*S*)-hydroxyoctadeca-9,11,15-trienoic acid (**107**)。当外源性加入 linolenic acid(**108**)和 γ-linolenic acid (**109**)到细胞悬浮液中,**104**～**106** 的产率增加 2～4 倍,而 α-linolenic acid 对细胞培养有毒性。用^{14}C标记乙酸酯和脂肪酸进一步阐明了脂质的代谢过程[84]。



第九节 红藻次生代谢产物的生物合成

Grewick 等深入研究了海洋红藻的氧脂质(oxylipin)分布和生物合成,并进一步研究了温带红藻 *Gracilariopsis lemaneiformis* 中邻二羟基脂肪酸的生物合成途径[85]。通过该藻的组织匀浆分段再用丙酮制粉模型(acetone powder preparation mode)使脂肪酸 arachidonic acid (**111**)和 eicosapentaenoic acid(**112**)转化

成二羟基二十碳四烯酸(5*Z*,8*Z*,10*E*,14*Z*)-(12*R*,13*S*)-dihydroxyeicosa-5,8,10,14-tetraenoic acid (**113**)和二羟基二十碳五烯酸(5*Z*,8*Z*,10*E*,14*Z*) -(12*R*,13*S*)-dihydroxyeicosa-5,8,10,14,17-pentaenoic acid (**114**)(图 23-28)。合成途径开始通过 84～89kDa 钠依赖 12-脂氧化酶的催化氧化**111** 成(5*Z*,8*Z*,10*E*,14*Z*)-(12*S*)-hyohoperoxy eicosa-5,8,10,14-tefraenoic acid,进一步通过氢过氧化异构酶催化转化成**113**。转化后的立体化学与另一底物(6*Z*,9*Z*,12*Z*)-xfadceatrienoic acid (**115**)一致,并立体选择性地在 8*R*,8*S*,11*R* 和 11*S* 位氘代。脂氧化酶催化反应首先除去 pro-8*R* 氢并在 C-10 的反式位置加入氧原子形成(10*S*)-氢过氧化物**116** (图 23-29)。从人血小板分出的 arachidonic aeid 12-脂质氧化酶不需要钠离子提高催化活性来催化相同的反应。氢过氧化异构酶(邻二醇合成酶)反应在分子内的 C-11 上羟基化,并且伴随着失去 pro-11*S* 氢产生二醇**117** 并保留绝对立体化学(图 23-29)[85]。

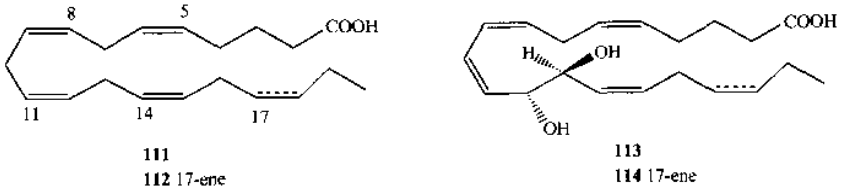


图 23-28

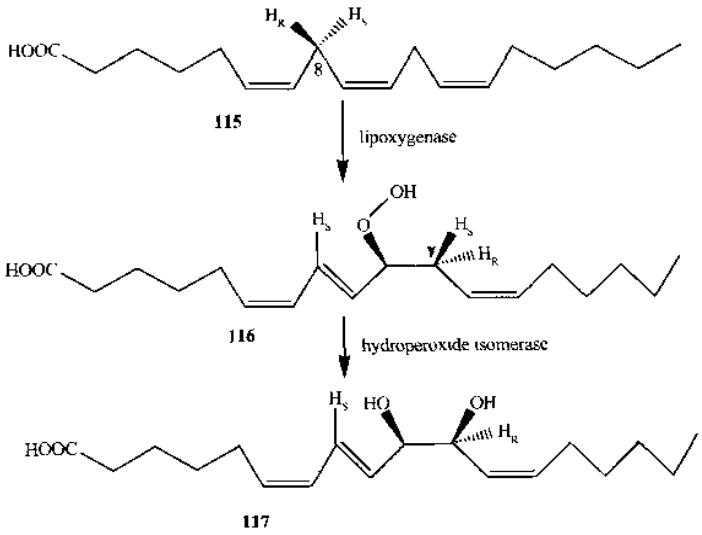


图 23-29

在红藻 *Lithothamnion Corallioides* 的非细胞转化使花生四烯酸(arachidonic acid,**111**)转化成(3R)-羟基花生四烯酸**118** 是通过特殊的转化机制,通过 $H_2{}^{18}O$ 标记表明羟基来源于水分子[86],若非导入分子必须被通过氧化提供分子中的氧,Gerwick 等假设**83** 的形成通过水与酶 M-复合物 **119** 的置换,在弱酸条件下,**118** 类的经过烯丙基重排成外消旋混合物氧代脂(15S)-**104** 和(11R)-羟基二十碳四烯酸(**120**)(图 23-30)。^{18}O 置换分子的氧分子表明**104** 和 **120** 是脂氧化酶的主要代谢产物。共轭四烯 bosseopentaenoic acid(**121**)也是在 *L. corallioides* 和 *Bossiella orbigniana* 中加入 **111** 后的共培养产物。它是通过独立途径并非通过羟基酸 **104** 或 **120** 中间体。Hamberh 早期报道独特的 *L. corallioides* 氧化酶在无氧化中间体存在下可催化相应的 C_{18}多不饱和脂肪酸生成共轭四烯系列。花生四烯酸 9(S)-脂氧化酶认为是在 *polymeura Latissima* 中形成各种氧化脂质的原因。

在 *Ptilota filicina* 中含共轭三烯的脂肪酸的生物合成途径与上述完全不一样。Gevwick 提出新的酶多烯脂肪酸异构酶对各种脂肪酸前体催化成其共轭三烯化合物,如花生四烯酸(arachidonic acid,**111**)和二十碳五烯酸(**112**)转化成相应的 5*Z*,7*Z*,9*Z*-共轭三烯局部异构体**122** 和 **123**。用立体专一性氧化标记 *R*-亚油酸

酯(*R*-linoleate),阐明了其局部和立体化学的质子转移包括二种异构化。作者提出前－10*S* 质子(Ha)的 1,3-烯丙基位移到酶结合二烯中间体**124** 的 C-12 位,而后第二次异构化除去前－7*R* 质子(Hc)并在由溶剂质子在 C-11 上重新质子化(图 23-31)。通过对各种不同底物的试验及其对产物的证明,Gerwick 提出多烯酸异构酶专一性针对底物的质子化位置,特别是对端甲基进行催化[87]。

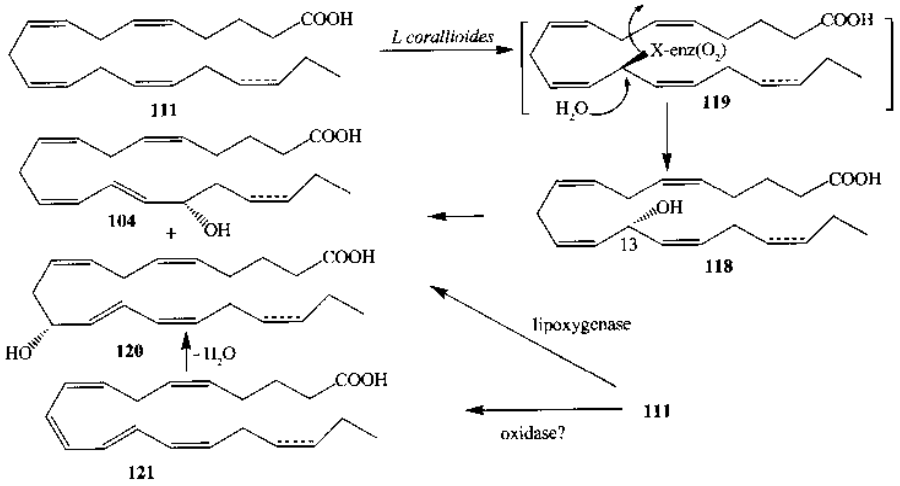


图 23-30

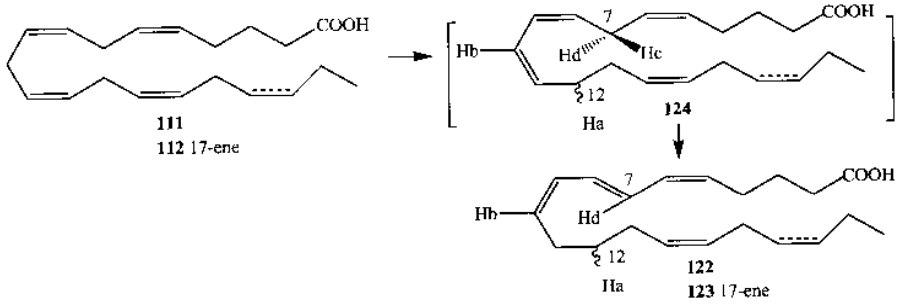


图 23-31

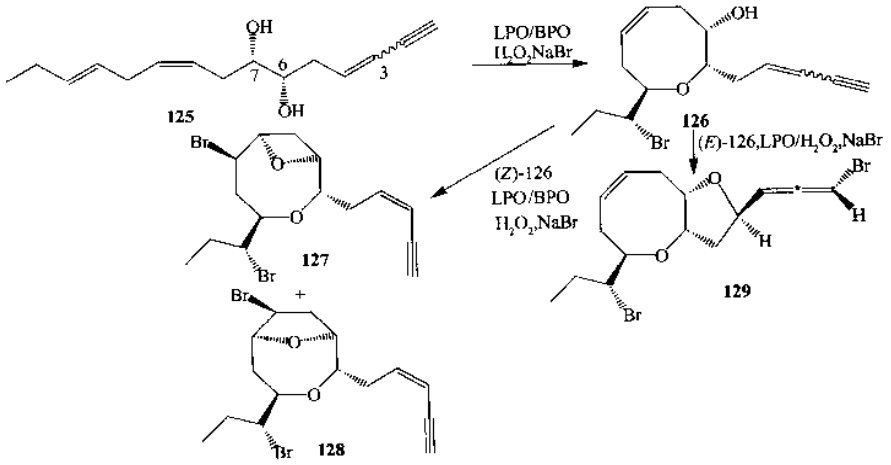


图 23-32

多种 Laufencia 红藻含溴代环醚化合物。它是非环化多烯前体通过臭离子引导后环合的产物。Murai 等用市场售的内酯过氧化酶(lactoperoxidase)[88](LPO)对(3*E*)和(3*Z*)-laurediol (**125**)进行仿生催化,转化成

(*E*)和(*Z*)-prelaureatin (**126**)。最近又从 *Laurencia nipponica* 中纯化到溴代过氧化酶(BPO)(图23-32)[89]。进一步用 LPO 或 BPO 处理(*Z*)-**126** 生成 laureatin (**127**) 和 isolaureatin(**128**),而用 LPO[90]处理(*E*)-异构体则生成丙二烯 laurallene (**129**)。已有文献报道海洋红藻 *Endocladia muricata* 经过一新的甲基转化酶反应生成卤代甲基的生物合成研究[91]。

参 考 文 献

[1] Fenical W. Chem Rev, 1993, 93: 1673
[2] Jensen P R et al. J Ind Microbiol, 1996, 17: 346
[3] Andersen R J et al. Mar Biol, 1974, 27: 281
[4] Laarsch H et al. Liebigs Ann Chem, 1989, 863
[5] Moore B S et al. J Org Chem, 1997, 62: 2173
[6] Needham J et al. Tetrahedron Lett, 1991, 32: 315
[7] Kingston D G I et al. J Am Chem Soc, 1983, 105: 5106
[8] Priestly N D et al. J Org Chem, 1995, 60: 4951
[9] Bobzin S C et al. Tetrahedron, 1993, 49: 7615
[10] Lee M S et al. J Am Chem Soc, 1989, 111: 6234
[11] Kobayashi J et al. J Chem Soc, Chem Commun, 1995, 1639
[12] Wright J L C et al. J Am Chem Soc, 1996, 118: 8757
[13] Gerard J et al. J Nat Prod, 1997, 60: 223
[14] Yazawa K et al. J Biochem, 1988, 103: 5
[15] Misawa N et al. J Biotechnol, 1998, 59: 169
[16] Tanaka T et al. Carcinogenesis, 1994, 15: 15
[17] Miki W et al. J Mar Biotechnol, 1994, 2: 35
[18] Misawa N et al. J Bacteriol, 1995, 177: 6575
[19] Kajiwara S et al. Plant Mol Biol, 1995, 29: 343
[20] Fernandez-Gonzalez B et al. J Biol Chem, 1997, 272 :9728
[21] Masumoto K et al Plant Cell Physiol, 1998, 39: 560
[22] Misawa N et al. J Bacteriol, 1990, 172: 6704
[23] Armstrong G et al. Proc Natl Acad Sci USA, 1990, 87: 9975
[24] Hundle B S et al. Mol Gen Genet, 1994, 245: 406
[25] Fraser P D et al. Eur J Biochem, 1998, 252: 229
[26] Yokoyama A et al. Tetrahedron Lett, 1998, 39: 3709
[27] Miura Y et al APPL Environ Microbiol, 1998, 64: 1226
[28] Miura Y et al. Biotechnol Bioeng, 1998, 58: 306
[29] Shimada H et al. Appl Environ Microbiol, 1998, 64: 2767
[30] Kajiwara S et al. Biochem J, 1997, 324: 421
[31] Moore R E et al. Curr Pharm Res, 1996, 2: 317
[32] Shimizu Y et al. J Am Chem Soc, 1984, 106: 6433
[33] Gupta S et al. J Chem Commun, 1989, 1421
[34] Honkanen T E et al. J Biol Chem, 1990, 265: 19401
[35] Moore R E et al. J Am Chem Soc, 1991, 113: 5083
[36] Dillip de Silva E et al. Tetrahedron Lett, 1992, 33: 1561
[37] Marahiel M A et al. Chem Rev, 1997, 97: 2651
[38] Dittmann E et al. Phycologia, 1996, 35: 62
[39] Matsunaga S et al. J Am Chem Soc, 1989, 111: 8121
[40] Moore B S et al. Tetrahedron Lett, 1992, 33: 6595
[41] Skulberg O et al. Toxicol Chem, 1992, 11: 321
[42] Hemscheidt T et al. J Chem Soc, Chem Commun, 1995, 1361
[43] Chen T S et al. J Org Chem, 1981, 46: 2661
[44] Ishibashi M et al. J Org Chem, 1986, 51: 5300
[45] Carmeli S et al. Terrahedron Lett, 1993, 34: 5571
[46] Gerwick W H et al. J Org Chem, 1994, 59: 1243

[47] Nagle D G et al. Tetrahedron Lett, 1995, 36: 1189
[48] Yoo H D et al. J Nat Prod, 1995, 58: 1961
[49] Orjala J et al J Nat Prod, 1996, 59: 427
[50] Orjala J et al. Phytochemistry, 1997, 45: 1087
[51] Srtachita N et al. J Am Chem Soc, 1998, 120: 7131
[52] Yasumoto T et al. Chem Rev, 1993, 93: 1897
[53] Shimizr Y et al. J Am Chem Soc, 1986, 108: 514
[54] Pawlak J et al. J Am Chem Soc, 1987, 109: 1144
[55] Lee M S et al. J Am Chem Soc, 1986, 108: 7855
[56] Yasumoto T et al. J Nat Prod, 2000, 64: 173
[57] Hu T et al. J Chem Soc. Chem Commun, 1995, 597
[58] Hu T et al. Tetrahedron Lett, 1995, 36: 9273
[59] Watanabe C M H et al. J Org Chem, 1996, 61: 1990
[60] Nakamura H et al. J Chem Soc, Perkin Trans 1, 1990, 3219
[61] Nakamura H et al. Tetrahedron Lett, 1993, 34: 8481
[62] Nakamura H et al. Tetrahedron, 1997, 53: 9067
[63] Nakamura H et al. Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO, Paris, 1996, 515
[64] Green R C. J Biol Chem, 1962, 237: 2251
[65] Kahn V. J Exp Bot, 1964, 15: 225
[66] Chillemi R et al. J Nat Prod, 1990, 53: 87
[67] Uchida A et al. Bull Jpn Soc Sci Fish, 1993, 59: 851
[68] Pokorny M et al. Phytochemistry, 1970, 9: 2175
[69] Gage D A et al. Nature, 1997, 387: 891
[70] Summers P S et al. Plant Physiol, 1998, 116: 369
[71] Wright J L C et al. Can J Chem, 1989, 67: 481
[72] Douglas D J et al. J Chem Soc, Chem Commun, 1992. 714
[73] Laycock M V et al. J Appl Physico, 1989, 1: 113
[74] Hemscheidt T et al. J Am Chem Soc, 1993, 115: 3020
[75] Ubukata M et al. J Chem Soc, Perkin Trans 1, 1995: 2399
[76] Flesch G et al. Eur J Biochem, 1988, 175: 405
[77] Rohmer M et al. J Chem Soc, Chem Commun, 1989, 1471
[78] Takahashi S et al. Proc Natl Acad Sci USA, 1998, 95: 9879
[79] Hamberg M. Biochem, Biophys Res Commun, 1992, 188: 1220
[80] Boland W. Proc Natl Acad Sci USA, 1995, 92: 37
[81] Stratmann K et al. Angew Chem, Int Ed Engl, 1992, 31: 1246
[82] Boland W et al. Angew Chem, Int Ed Engl, 1995, 34: 1602
[83] Hombeck M et al. Tetrahedron, 1998, 54: 11033
[84] Hofmann M et al. Arch Biochem Biophys, 1993, 305: 115
[85] Hamberg M et al. Arch Biochem Biophys, 1993, 305: 115
[86] Gerwick W H et al. Phytochemistry, 1993, 34: 1029
[87] Wise M L et al. Biochemistry, 1997, 36: 2985
[88] Fukuzawa A et al. Tetrahedron Lett, 1992, 33: 2017
[89] Fukuzawa A et al. Chem Lett, 1994, 2307
[90] Ishihara J et al. Tetrahedron, 1997, 53: 8371
[91] Saini H S et al. Cell Environ, 1995, 18: 1027

（林文翰）

附　录

附录一　中文主题索引

(Object Index in Chinese)

一　画

一叶萩碱　securinine **136**
一叶萩醇碱　securinol **136**
7-乙基-10-(4-哌啶基)-1-哌啶基羰氧喜树碱　7-ethyl-10-(4-piperidino)-1-piperidino-carbonyloxy-camptothecin **764**
6-乙酰-7-去乙酰鞘蕊花素　6-acetyl-7-deacetylforskolin **342**
乙酰升麻醇木糖苷　acetyl shengmanol xyloside **414**
乙酰泽兰苦内酯　euparotin acetate **210**
乙酰泽兰氯内酯　eupachlorin acetate **210**
3β-乙酰氧基-孕甾-5, 16-二烯-20-酮　3-acetoxy-pregna-5, 16-dien-20-one **439**
乙酰黄夹次苷元　cerberin **695**

二　画

丁子香烯　clovene **220**
丁子香烷　clovane **200**
丁亚毒素　tinyatoxin **366**
丁香酚　eugenol **167**
七叶内酯　esculetin **590**
七叶皂苷　escin **412**
七叶素　escin **412**
九里香豆素　coumurrayin **590**
二乙酰伪薯蓣皂苷元　pseudodiosgenin diacetate **439**
二十碳五烯酸　eicosapentaenoic acid **824**
二十碳烯酸　eicosenoic acid **838**
16, 17-二去氢百部叶碱　16, 17-didehydrostemofoline **150**
二甲氨基萘磺酸氯　dansyl chloride DNS-Cl **471**
9-二甲胺甲基-10 羟基-喜树碱　9-[(dimethylamino)methyl]-10-hydroxycamptothecin **763**
4-*N*, *N*-二甲胺基偶氮苯-4′-异硫氰酸酯　4-*N*, *N*-dimethylaminoazobenzene-4′-isothiocyanate DABITC **471**
二甲基二硫醚　dimethyl disulfide **187**
二甲基烯丙基二磷酸酯　dimethylallyl diphosphate DMAPP **169**
1, 7-二甲基菲　pimarthrene **351**
3-二甲基硫代丙酸　3-dimethylsulfoniopropionate **833**
二甲酮　dimedon **141**
二芳基丁二醇　dibenzylbutanediol **617**
二芳基丁烷　dibenzylbutane **617**
二环律草烷　bicyclhydroxyhumulane **197**
二环愈牛儿烷　bicyclogermacrane **197**
二环愦烷　bicycloelemane **197**
二苯甲酰基防己醇　dilbenzoylsinomenol **124**
二苯呋喃　dibenzofuran **667**
(4S, 5R)-2, 4-二苯基唑-5-羧酸　(4S, 5R)-2, 4- bibenzol-5-oic acid **315**
二苯磷酰叠氮　diphenylphosphoryl azide DPPA **806**
二氢一叶萩碱　dihydrosecurinine **136**
二氢异松萝酸　dihydroisousnic acid **669**
二氢防己碱　dihydrosinomenine **124**
二氢辛可宁　dihydrocinchonine **127**
二氢辛可尼定　hydrocinchonidine **127**
二氢驱蛔素　dihydroascaridol **257**
二氢松萝酸　dihydrousnic acid **669**
二氢欧山芹醇　columbianetin **605**
二氢环除虫菊精　dihydrocyclopyrethrosin **216**
二氢青蒿素　dihydroartemisinin **755**
二氢奎宁　hydroquinine **127**
二氢奎尼定　hydroquinidine **127**
二氢假荆芥内酯　dihydronepetalactone **185**
二氢睡菜苷　dihydrofoliamenthin **189**
二氧化碳超临界提取　super-critical carbon dioxide extraction **167**
2, 6-二氨基庚二酸　2, 6-diaminopimelic acid **448**
二烯丙基三硫　diallyltrisulfide **698**
二烯丙基硫代亚磺酸酯　diallyldisulfide oxide **697**
1, 3-二羟基-2-乙氧羰基-9, 10-蒽醌　1, 3-dihydroxy-2-carboethoxy-9, 10-anthraquinone **583**
二酚乙烯　stilbene **704**
2, 4-二硝基氟苯　2, 4-dinitrofluorobenzene DNFB **452**
二酮哌嗪　diketopiperazine **835**
人参皂苷 Rb_1　ginsenoside Rb_1 **423**
人参皂苷 Rb_2　ginsenoside Rb_2 **414**
人参黄酮苷　panasenoside **531**
儿茶素　catechin **533**
八区律　octant rule **111**
十八烷基键合硅胶　octadecylsilane ODS **411**

12-O-十四烷酰基大戟二萜醇-13-乙酸酯 12-O-tetradecanoyl-phorbol-13-acetate TPA **363**

三 画

万年青苷 rhodexin **695**
三叶豆紫檀苷 trifolirhizin **532**
3,4,5-三甲氧基苯甲酸 3,4,5-trimethoxyl benyl acid **155**
三甲基硅醚 tetramethylsilane TMS **29**
三尖杉宁碱 cephalomannine **307**
3′,4,5′-三羟基1,2-二苯乙烯 3′,4,5′-trihydroxylstilbene **704**
千里光酰氧基 senecioxy **593**
千金藤素 cepharanthine **7**
千金藤碱 stephanine **120**
卫矛醇 ducitol **499**
土大黄苷 rhapoticin **655**
土木香内酯 alantolactone **214**
土贝母苷 tubeimoside **418**
土荆芥酮 aritasone **180**
土槿皮乙酸 psendolaric acid B **113**
士的宁 strychnine **232,778**
大孔吸附树脂 macroporous adsorption resin **17**
大孔吸附树脂柱层析 macroporous adsorption resin chromatography,MARC **536**
大叶千里光次碱 macronecine **135**
大叶千里光碱 macrophylline **135**
大叶百部碱 tuberostemonine **136**
大叶唐松草碱 thalifaberine **125**
大田软海绵酸 okadaic acid **831**
大田软海绵酸二醇酯 okadaic acid diol ester **831**
大花淫羊藿次苷 icariside **563**
大豆苷 daidzin **532**
大豆素 daidzein **532**
大豆素-7,4′-二葡萄糖苷 daidzein-7,4′-diglucoside **532**
大豆黄素 daidzein **564**
大环二萜 macrocyclicdeterpene **361**
大根香叶烯 germacrene **219**
大麻二酚 cannabidiol **656**
大麻二酚酸 cannabidiolic acid **656**
大麻环萜酚 cannabichromene **656**
大麻酚 cannabinol **656**
大黄根酸 chrysophanic acid **574**
大黄素 emodin **575**
大黄素甲醚 physcion **576**
大黄素甲醚-8-O-β-D-吡喃葡萄糖苷 physcion-8-O-β-D-glucopyranoside **579**
大黄酚 chrysophanol **574**
大黄酚-1-O-β-D-吡喃葡萄糖苷 chrysophanol-1-O-β-D-glucopyranoside **579**
大黄酚-8-O-β-D-6′-O-没食子酰-吡喃葡萄糖苷 chrysophanol-8-O-β-D-6′-O- galloyl-glucopyranoside **579**
大黄酚-8-O-β-D-吡喃葡萄糖苷 chrysophanol-8-O-β-D-glucopyranoside **579**
大黄酚苷 chrysophanein,pulmatin **575**
大黄酸 rhein **575**
大戟醇 euphol **421**
大戟二萜醇 phorbol **362**
大蒜新素 allitride **1,698**
小檗碱 berberine **120**
小蠹二烯醇 grandisol,ipsdienol **295**
小蠹烯醇 ipsenol **295**
山甘草皂苷Q mussaendoside Q **434**
山柰酚 kaempferol **562**
山柰酚-3-O-(4″-咖啡酰)昆布双糖-7-O-鼠李糖苷 kaempferol-3-O-(4″-caffeoyl) laminaribioside-7-O-rhamnoside **552**
山栀苷 shanzhiside **186**
山胡椒内酯 linderalactone **213**
山梨醇 sorbitol **499**
山荷叶素 diphyllin **627**
山莨菪碱 anisodamine **138**
山道年 santonin **206**
山槐素 maackiain **532**
山萘素 hancinone **638**
川牛膝甾酮 cyasterone **273**
川芎嗪 chuanxingzine **1**
川陈皮素 nobiletin **530**
川楝素 toosendanin **424**
干蠕孢菌素 siccanin **657**
广木香内酯 costunolide **206**
广藿香烷 patchoulane **200**
门冬氨酸 aspartic acid **449**
门冬酰胺 asparagine **449**
门衣司亭-1-甲醚 munjistin-1-methyl ether **582**
飞燕草素 delphinidin **533**
马钱素 loganin **186**
马兜铃内酰胺 aristololactam **655**
马兜铃烷 aristolane **199**
马兜铃萜酸 aristoterpane **197**
马兜铃酸 aristolochic acid **655**
马鞭草油 verbena oil **180**
马鞭草苷 verbenalin **186**
马鞭草烯酮 verbenone **180**
马鞭草烯醇 verbenol **295**

四 画

中龙胆苷元 mesogentiogenin **189**
中药基因组计划 traditional Chinese medicine genome project TCM-GP **568**

丹皮酚　paeonol　4
丹参素　salvianic acid A　677
丹参酚酸　salvianolic acid　13,677
丹参酮　tanshinone　330
丹参酮ⅡA　tanshinone ⅡA　330,788
丹参螺旋缩酮内酯　danshenspirokellactone　330
丹磺酰氯　dansyl chloride,DNS-Cl　450
乌台树脂酚　matairesinol　620
乌头碱　aconitine　116
乌拉尔甘草次酸　uralenic acid　425
乌药烷　lindenane　199
乌药酮　linderone　651
乌索烷　ursane　426
互变异构菌亭素　tautomycetin　834
五味子丙素　schizandrin C　756,wuweizisu C　796
五味子素　schisandrin　615
五味子酯Q　schisantherin Q　637
五味子醇甲　schizandrin C　756
五氟苯酯　pentafluorophenyl ester　806
五聚白绵马素　pentaalbaspidin　666
井冈霉素　jinggangmycin　92
六甲基磷酰胺　hexamethyl phosphoramide,HMPA　296
六聚白绵马素　hexa-albaspidin　666
六聚黄绵马酸　hexa-flavaspidic acid　666
分子离子峰　molecular ion peak　102
分子蒸馏　molecular distillation MD　536
化学分类学　chemotaxonomy　115
化学电离　chemical ionization,CI　507
区域异构体　positional isomer　293
双水相萃取技术　aqueous two phase extraction,ATPE　536
双白术内酯　biatractylolide　261
双没食子酸　digallic acid　654
双苄基异喹啉　bisbenzylisoquinoline　119
双炔失碳酯　anodrin　773
双环金合欢烷　bicyclofarnesane　197
双氢黄酮　flavanone　527
双氢黄酮醇　flavanonol　527
双量子相干转移　double quanta chydroxyerence transfer　61
双量子滤波　double quanta filter　61
双稠吡咯烷　pyrrolizidine　135
天冬皂苷　443
天花粉蛋白　trichosanthin TCS　1,467
天竺葵素　pelargonidin　533
巴丹　cartap　712
巴卡林　baccharin　205
巴豆因子S　crotonfactor S　363
巴豆油因子A_1　crotonoil factor A_1　363
巴豆烷　tigliane　362
3,4-开环伪愈创木内酯　3,4-seco-pseudoguaianolide　200
4,5-开环伪愈创木内酯　4,5-seco-pseudguaianolide　200
开环异落叶松树脂醇　secoisolariciresinol　613
开环桉叶内酯　seco-eudesmanolide　200
开环愈创木内酯　seco-guaianolide,xanthanolide　200
开环牻牛内酯　seco-germacranolide　200
开环番木鳖苷　secologanin　131
文朵灵　vindoline　157,765
无色飞燕草素　leucodelphinidin　534
无色天竺葵素　leucopelargonidin　534
无色矢车菊素　leucocyanidin　534
无色花色素　leucoanthocyanidin　534
无色翠雀定　leucodelphinidin　534
无畸变的核极化转移技术　disturtionless enhancement by polarization transfer,DEPT　237
月桂烯　β-myrcene　173
月桂烷　laurane　197
木兰花碱　magnoflorine　120,670
木质素　lignin　677
木脂体内酯　lignanolide　620
木犀草素　luteolin　530
7-木糖-葛根素　7-O-xylosyl puerarin　532
毛叶香菜素A　rabdosin A　352
毛叶香菜素B　rabdosin B　352
毛花洋地黄毒苷丙　lanatoside C　690
毛果芸香碱　pilocarpine　1
毛线柱芦苔葸醌　rhynchotechol　582
毛细管电泳　capillary electrophoresis　463
毛蕊素　capillin　651
毛蕊红　erythoglaucin　795
毛蕊花糖苷　verbascoside　501
气相层析　gas chromatography　8
水飞蓟宾　silybin　563
火焰离子化检测器　flame ionization detector,FID　384
牛蒡子苷　arctiin　620
牛蒡子苷元　arctigenin　614
牛膝甾酮　inokosterone　273
瓦尔伯醛　warburganal　301
计算机化学　computer chemistry　1
贝叶烷　beyerane　305
贝壳杉双黄酮　agathisflavone　558
贝壳杉烯　kaurene　351
贝壳杉烷　kaurane　305
车叶草苷　asperuloside　186
长叶松烷　longipinane　200
长叶烷　longifolane　200
长松针烯　carene　182
长松针酮　carone　182
长春地辛　vindesine　765
长春胺　vincamine　157

长春新碱 vincristine **151,765**
长春碱 vinblastine **151,765**
长蠕孢烷 helminthosporane **199**

五 画

丙氨酸 alanine **449**
丙烯半胱氨酸亚砜 (+)-S-prop-1-enyl-L-systeine-S-oxide **699**
丙烯基次磺酸 prop-1-enylsulfenic acid **699**
丙烯基酚 propenyl phenol **611**
东莨菪内酯 scopoletin **591**
东莨菪苷 scopolin **591**
东莨菪碱 hyoscine,scopolamine **138**
东莨菪醇 scopine **141**
东罂粟碱 oripavine **121**
丝氨酸 serine **449**
他克林 tacrine **758**
仙鹤草酚 agrimol **653**
代谢偶然产物 metabolic accidents **820**
冬凌草乙素 ponicidin,rubescensin B **352**
冬凌草丁素 rubescensin D **357**
冬凌草甲素 oridonin,rubescensin A **352**
加拿大麻糖 β-D-cymarose **499,681**
半日花烷 labdane **305**
半月苔酸 lunularic acid **676**
半乳糖 galactose **492**
半乳糖醇 galactitol **499**
半胱胺酸 cysteine **449**
卡山烷 cassane **305**
卡拉烯 calamene **259**
卢氏冬凌草乙素 ludongnin B **353**
卢氏冬凌草甲素 ludongnin A **353**
去乙酰毛花苷 deslanoside **1**
10-去乙酰白卡亭 Ⅲ 10-deacetyl-baccatin Ⅲ **307**
7-去乙酰鞘蕊花素 7-deacetylforskolin **342**
去水阿托品 apotropine,atropamine **138**
去水莨菪酸 apotropic acid **139**
去甲二氢愈创木脂酸 nordihydro guaiaretic acid **617**
去甲乌药碱 demethyl coclaurine,higenamine **119**
去甲布拉易林 norbraylin **592**
去甲红镰孢素 norrubrofusarin **534**
4-去甲基环烯醚萜苷 4-demethylindoid glycoside **186**
去甲斑蝥素 norcantharidine **768**
去甲蟛蜞菊内酯 demethylwedelolactone **594**
去氢保幼酮 dehydrojuvabione **289**
去氢胆酸 dehydrocholic acid **773**
去氢骆驼蓬碱 harmine **152**
12-去氧-16-羟基大戟二萜醇 12-deoxy-16-hydroxyphorbol **362**
去氧大戟二萜醇 deoxyphorbol **362**
去氧五味子素 deoxyschizandrin **636**
1-去羟基-巴苦亭-Ⅵ 1-dehydroxy-baccatin Ⅵ **319**
20-去酰基树脂大戟毒素 20-desacylresiniferatoxin **366**
古豆碱 hygrine **135**
可卡因 cocaine **116**
可待因 codeine **121**
叶下珠脂素 phyllanthin **617**
叶绿醇 phytol **836**
叶黄素 xanthophyll **708**
四去甲三萜 tetranortriterpenoid **424**
3,4,6,7-四甲氧基菲 3,4,6,7-tetramethoxy phenanthrene **124**
四甲基吡嗪 tetramethylpyrazine **1**
四氢大麻酚 tetrahydro-cannabinol **656**
四氢大麻酚酸 tetrahydrocannabinolic acid **656**
四氢巴马汀 tetrahydropalmatine **120**
四氢叶酸 tetrahydrofolate **830**
四氢异喹啉羧酸 1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-3-carboxylic acid,Tic **450**
四氢呋喃 tetrahydrofuran **628**
四氮唑 tetrazole MTT **587**
外-异头碳效应 exo-anomeric effect **496**
失水苦鬼臼脂素 apopicropodophyllin **616**
失碳莽草素 noranisatine **232**
失碳莽草酮 noranisatinone **232**
头孢菌素 cephalosporine **712**
它感化合物 allelochemicals **271**
对叶百部碱 tuberostemonine **136**
对桂皮酸 p-coumaric acid **677**
对桂皮醇 p-coumaryl alchhydroxyol **677**
对氧化樟脑 p-oxocamphor **151**
对聚伞花素 p-cymene **167**
尼奥品 neopine **121**
左旋延胡索乙素 rotundin **265**
巨大戟烷 ingenane **362**
巨大戟醇 ingenol **364**
布拉易林 braylin **592**
布枯脑 diosphenol **177**
正缬氨酸 norvaline **822**
汉防己乙素 demethyl tetrandrine,hanfangchin B **7**
汉黄芩苷 wogonoside **530**
汉黄芩素 wogonin **530**
玄参苷 harpagoside **188**
玉米烯酮 zearalenone **658**
玉米黄素 zeaxanthin **826**
玉蜀黍黄素 zeaxanthin **708**
瓜菊酯 cinerin **190**
甘油 glycerol **830**

甘油醛 glyceraldehyde **490**
甘油醛-3-磷酸酯 glyceraldehyde-3-phosphate **821**
甘草次酸 glycyrrhetinic acid **425**
甘草苷 liquiritin **539**
甘草查尔酮 licochalcone **556**
甘草素 liquiritigenin **549**
甘草素-7,4′-二葡萄糖苷 liquiritigenin-7,4′-diglucoside **539**
甘草甜素 glycyrrhizin **2**
甘草黄酮 licoflavone **563**
甘草酸 glycyrrhizic acid **425**
甘氨酸 glycine **449**
甘遂萜酯 A kansuinine A **369**
甘醇酸酯 glycolate **831**
甘露聚糖 mannan **497**
甘露糖醇 mannitol **499**
生物合成神经肽 pheromone biosynthesis activating neuropeptide,PBAN **293**
甲瓦龙酸 mevalonic acid **169,822**
甲地孕酮 megestrol **773**
甲状旁腺激素 parathyroid hormone **102**
甲氟喹 mefloquine **249**
甲氧代百部叶碱 methoxylstemofoline **150**
甲氧基白芷内酯 6-sphondin **592**
5-甲氧基邪蒿内酯 5-methoxyseselin **592**
12α-甲氧基细花百部碱 12α-methoxylparvistemonine **146**
7-甲氧基香豆素 herniarin **590**
1-甲基-7-异丙基菲 retene **322**
2-甲基丁酰氧基 2-methylbutyryloxy **593**
(*R*,*Z*)-14-甲基十六烯-8-醇 (*R*,*Z*)-14-methylhexadec-8-enol **295**
(2*R*,3*S*)-3-甲基天冬氨酸 MASP (2*R*,3*S*)-3-methylaspartic acid **826**
2-甲基牛磺酸 2-methyltaurine **699**
N-甲基去乙酰基白坚木碱 *N*-methyl desacethyl aspidospermine **658**
甲基戊二酸 methylpentandioic acid **438**
甲基异石榴碱 methylisopelletierine **118**
甲基纯叶决明素 chryso-obtusin **577**
3-甲基环十五烷酮 3-methyl-cyclopentadecanone **705**
甲基斑蝥胺 N-methylcantharidimide **192**
甲基睾丸酮 methyltestesterone **773**
甲羟戊酸 mevalonate **830**
甲硫氨酸 methionine **449,826**
4-甲硫基-2-氧丁酸 4-methylthio-2-oxobutyric acid **837**
4-甲硫基-2-羟基丁酸 4-methylthio-2-hydroxy butyric acid **837**
电子轰击 electron (impact) ionization,EI **507**
电子轰击质谱 electron impact mass spectra,EI-MS **100**
电子俘获检测器 electron capture detector,ECD **384**
电喷雾电离 electrospray ionization,ESI **102,507**
白三烯 leukotriene **677**
白坚木碱 aspidospermine **157**
白芥子苷 sinabin **657,700**
白花前胡丙素 praeruptorin C **609**
白芷内酯 angelicin **592**
白屈菜红碱 chelerythrine **120**
白果内酯 bilobalide **378**
白果素 bilobetin **528**
白柠檬素 limettin **590**
白牵牛碱 ipalbidine **136**
白桦脂酸 betulinic acid **704**
白绵马醇 albaspidine **665**
白鲜碱 dictamnine **127**
白藜芦醇 resveratrol **675,704**
皮啡肽 dermorphin **448**
矢车菊素 cyanidin **533**
石竹素 caryophyllin **220**
石竹烷 caryophyllane **197**
石杉碱乙 huperzine B **160**
石杉碱甲 huperzine A **160,758**
石房蛤毒素 saxitoxin **826**
石松碱 lycopodine **834**
立可定 recordil **562**
鸟氨酸 ornithine **449**
龙胆双糖 gentiobiose **701**
龙胆苦苷 gentiopicrin **189**
龙胆苦苷元 gentiogenin **189**
龙胆碱 gentianine **184**
龙脑 borneol **181**

六 画

R-亚油酸酯 *R*-linoleate **841**
亚麻酸 linolenic acid **840**
交叉共轭双烯酮 cross conjugated dienone **363**
交互化合物 allelochemicals **271**
伊蚊内酯 iridomyrmecin **185**
伊诺替康 irinotecan **764**
伊鲁烷 illudane **199**
优龙胆苦苷元 eugentiogenin **189**
优达烯 eudalene **214**
伞形花内酯 umbelliferone **590**
伪利血平 pseudoreserpine **154**
伪石榴皮碱 pseudopelletierine **118**
伪莨菪醇 pseudotropine **141**
伪紫红素 pseudopurpurin **576**
伪愈创木内酯 pseudoguaianolide **200**
伪愈创木烷 pseudoguaiane **198**
光泽汀-1-甲醚-11-*O*-β-葡萄糖苷 lucidin-1-methyl ether-11-

O-β-glucoside **582**
光泽汀-3-*O*-β-葡萄糖苷 lucidin-3-*O*-β-glucoside **582**
光泽汀-3-*O*-β-樱草糖苷 lucidin-3-*O*-β-primeveroside **582**
农吉利碱 monocrotaline **135**
列当苦苷 orobanin **186**
协同素 synomone **271**
印马烷 ishwarane **200**
印楝素 azadirachtin **424**
吐根碱 emetine **120**
吗啉 morpholine **465**
吗啡 morphine **119,778**
地弗地衣酸 diffractaic acid **655**
地红霉素 dirthromycin **772**
地衣酚 lichenoide **651**
地芰糖 diginose **684**
地高辛 digoxine **681,773**
地塞米松 dexamethasone **773**
场致电离 field ionization, FI **507**
场解析 field desorption, FD **507**
多奈派齐 donepezil **758**
多柔比星 doxorubicin **577**
多球壳菌素 myriocin **769**
多磷酸 polyphosphoric acid, PPA **607**
夹竹桃内酯 oleandolide **799**
夹竹桃苷元 oleandrigenin **695**
安五脂素 anwulignan **617**
尖胡椒酯酮 futoenone **644,652**
庆丰霉素 qingfengmycin **92**
庆井霉素 qingjingmycin **92**
延令草次苷 trillin **441**
延命草素 enmein **352**
延胡乙素 tetrahydropalmatine **120**
异二氢假荆芥内酯 isodihydronepetalactone **185**
异土木香内酯 isoalantolactone **214**
异丹参酮Ⅰ isotanshinone Ⅰ **330**
异丹参酮ⅡA isotanshinone ⅡA **330**
异丹酚酸C isosalvianolic acid C **677**
异巴卡林 isobaccbarin **205**
异巴卡林醇 isobaccharinol **205**
异月桂烷 isolaurane **197**
异长松叶烷 isolongifolane **200**
异长春碱 leurosidine **157**
异东莨菪醇 scopoline **141**
异去甲蟛蜞菊内酯 isodemethylwedelolactone **594**
异头中心 anomeric center **492**
异头碳 anomeric C-atom **492**
异头碳效应 anomeric effect **493**
异戊烯基二磷酸酯 isopentenyl diphosphate, IPP **169,826**
异戊烯焦磷酸 isopentenyl pyrophosphate **834**
异戊酰氧基 isovaleryloxy **593**
异甘草苷 isoliquiritin **593**
异甲氧代百部叶碱 isomethoxylstemofoline **150**
异石榴碱 isopelletierine **118**
异龙脑 isoborneol **181**
异伊蚁内酯 isoiridomyrmecin **185**
异百部叶碱 isostemofoline **150**
异羊角拗苷 divastroside **692**
异芒果苷 isomangiferin **534**
异芒柄花苷 isoononin **539**
异何伯烷 isohopane **426**
异利血平 isoreserpine **154**
异利血平酸内酯 **154**
异牡荆苷 isovitexin **552**
异纽阿替皂苷元 **444**
异花侧柏烷 isocuparane **192**
异补骨脂内酯 isopsoralen **592**
异辛诺苷 sinostroside **692**
异阿马林 isoajmaline **154**
异垂盆草苷 isosarmentosin **702**
异岩藻甾醇 isofucosterol **284**
异欧前胡内酯 isoimperatorin **591**
异金丝桃苷 isohyperin **531**
异亮氨酸 isoleucine **449**
异胡罗卜烷 isodaucane **198**
异胡薄荷酮 isopulegone **591**
异茴芹内酯 isopimpinellin **591**
异香柑内酯 isobergapten **592**
异原百部碱 isoprotostemonine **149**
异核多级量子相干谱 heteronuclear multiple-quantum chydroxyerence, HMQC **64,240,507**
异海人草酸 allokainic acid **455**
异常山碱 isofebrigugine **133**
异牻牛儿醇 isogeraniol **171**
异羟基洋地黄毒苷元 digoxigenin **681**
异菝契皂苷元 smilagenin **437**
异萝尼生 isoraunescine **154**
异银杏黄素 isoginkgetin **528**
异雪松烷 isocedrane **200**
异喹啉 isoquinoline **119**
异硫氰酸苯酯 phenylisothiocyanate, PITC **451**
异落叶松树脂醇 isolariciresinol **627**
异滇百部碱 isostemotinine **143**
异蜂斗菜素 isopetasin **207**
异榕碱 isoficine **527**
异蔓生百部碱 isostemonamine **144**
异槲皮苷 isoquercetrin **563**
异樟烷 isocamphane **169**
异薄荷酮 isomenthone **177**

当归内酯 angelicone **590**
当归酮 angelicone **590**
当归酰氧基 angeloyloxy **593**
当归酸 angelic acid **660**
托品烷 tropane **829**
早熟烯 prococene **290**
杀线虫剂 nematocides **729**
毕澄茄烷 cubebane **199**
江户樱花苷 prunin **561**
灯心草酮 juncumone **655**
灯盏花素 breviscapine **562**
百日青甾酮 A ponasterone A **273,281**
百里香酚 thymol **167**
百部叶碱 stemofoline **146**
百部宁碱 stemonin,stenine **144**
百部新碱 stemoninine **143**
百部碱 stemonine **149**
竹叶乙苷 etoposide **7**
红古豆碱 cuscohygrine **135**
红苋甾酮 rubrosterone **273,282**
红紫棓素 purpurogallin **656**
红潮毒素 brevetoxin **824**
红霉内酯 erythronolide **770**
红霉素 erythromycin **770**
红霉胺 erythromycylamine **772**
红霉脱氧糖胺 desosamine **770**
红镰孢素 rubrofusarin **534**
红镰孢素-6-β-龙胆二糖 rubrofusarin-6-β-gentiobioside **534**
纤细皂苷 gracillin **441**
纤维二糖 cellubiose **673**
纤维素酶 cellulase **414**
羊毛甾烷 lanostane **422**
羊毛脂醇 lanosterol **421**
羊角拗苷 divaricoside **692**
羊角拗质 D-strophanthin **693**
羽毛柏烷 widdrane **198**
羽扇豆烷 lupane **426**
羽扇豆醇 lupeol **421,582**
肉苁蓉苷 boschnaloside **186**
肉桂醇 cinnamyl alchydroxyol **611**
肌醇 inositol **499**
色原酮香豆素 chromonocoumarin **589**
色氨酮 trytanthrin **769**
色氨酸 tryptophan **449**
色胺 serotonin **131**
色酮 chromone **598**
芋螺毒素 conotoxin **711**
芍药内酯苷 albiflorin **180**
芍药苷 paeoniflorin **180**
芍药新苷 lactiflorin **180**
芒柄花素 formononetin **559,792**
芒柄花醇 onocerin **421**
芝麻林脂素 sesamolin **632**
芝麻脂素 sesamin **632**
血小板活化因子 platelet activating factor,PAF **378**
血根碱 sanguinarine **7,120**
西地兰 cedilanid,deacetyllanatoside C **681,773**
西克拉明皂苷 cyclamin **414**
西克拉明苷元 A cyclamiretin A **414**
西克拉明苷元 D saxifragifolin D **414**
西松烷 casbane **362**
西洋参 L_1 quinquenin L_1 **639**
达玛二烯醇 4dammaradienol **21**
达玛烷 dammarane **423**
那可汀 narcotine **119**
那碎因 narceine **121**
邪蒿内酯 seselin **592**
问荆苷 equisetrin **531**
防己碱 sinomenine **124**
齐墩果烷 oleanane **425**
齐墩果酸 oleanolic acid **421**
齐墩果糖 oleandrose **499**

七 画

两性离子 zwitterion **450**
串联质谱 tandem mass spectrometry **507**
何伯烷 hopane **426**
佛手柑烷 bergamotane **197**
克拉定糖 cladinose **770**
克拉霉素 clarithromycin **772**
克罗烷 clerodane **305**
初别胆甾酸 acetioallobillianic acid **437**
初胆甾酸 acetiobillianic acid **437**
利己素 allomone **271**
利它素 kairomone **271**
利血平 reserpine **151,781**
利血平酸 **155**
利血平酸内酯 **155**
利血平醇 **155**
别一叶萩碱 allo-securinine **136**
别育亨宾 alloyhydroxyimbine **153**
别胆酸 allocholic acid **686**
劳丹宁 laudanidine **122**
吡咯烷 pyrrolidine **135**
吡哆醛 pyridoxal **451**
吡啶基丙氨酸 pyridyl alanine Pal **450**
吡啶酮 pyridone **160**
吡喃香豆素 pyranocoumarin **591**

吡喃糖 pyranose **496**
吲哚里西定 indolizidine **136**
告警信息素 alarm pheromone **272**
呋喃螺旋甾烷 furospirostane **444**
壳二孢呋喃醇 ascofuranol **657**
壳聚糖 chitosans **566**
完全相关谱 total correlation spectroscopy, TOCSY65 **507**
希普林 schiperine **759**
忍冬苦苷 loniceroside **189**
忍冬苷 lonicerin **530**
忍冬素 loniceraflavone **530**
快原子轰击电离 fast atom bombardment, FAB **102**
快速互变 pseudorotation **495**
抑制磷脂酶 A_2 phospholipase A_2 **727**
抗体酶 abzyme **821**
抗保幼激素 anti-juvenile hormone **290**
抗蜕皮激素 anti-ecdysterone **283**
杏仁腈 mandelonitrile **701**
杜尔可苷 dulcoside **356**
杜松内酯 cadinanolide **200**
杜松烯 cadinene **713**
杜松烷 cadinane **197**
杜朗丁 dolantine **116**
杠柳苷 beiwujiapi glycoside 693, periplocoside **694**
杠柳苷元 periplogenin **693**
杨梅素 myricetin **531**
沙门苷元 sarmentogenin **692**
沙门糖 sarmentose **684**
没药烯 bisabolene **220**
灵芝酸 C ganoderic acid C **422**
牡荆苷 vitexin **552**
牡荆素 vitexin **552**
纯叶决明素 obtusin **577**
纯菇菌素 obtusin **577**
纽阿替皂苷元 **444**
芥子苷 sinigrin **700**
芥子酸 sinapic acid **677**
芥子醇 sinapyl alchhydroxyol **677**
芦丁 rutin **562**
芦荟大黄素 aloe-emodin **575**
芦荟大黄素-8-O-β-D-吡喃葡萄糖苷 aloe-emodin-8-O-β-D-glucopyranoside **575**
芦荟苷 aloin **575**
芫花素 genkwanin **530**
芫花酯乙 yuanhuadine **366**
芫花酯甲 yuanhuacine **366**
花生四烯酸 arachidonic acid **840**
花色素 anthocyanidin **528**
花侧柏烷 cuparane **197**
花椒内酯 xanthyetin **592**
花椒毒内酯 xanthotoxin **591**
花椒毒酚 xanthotoxol **591**
芳樟醇 linalool **173**
芷香酮 ionone **826**
芸苔苷 glucobrassicin **700**
6-C-芸香糖基金合欢素 6-C-rutiosylacacetin **561**
芹子烯 selinene **220**
芹菜苷 apiin **530**
芹菜素 apigenin **530**
芹菜糖 apiose **552**
苄基异喹啉 benzylisoquinoline **119**
竺烷 thujane **169**
苏氨酸 threonine **449**
补骨脂乙素 corylifolinin **548**
补骨脂内酯 psoralen **591**
补骨脂甲素 corylifolin **548**
角鲨烯 squalene **421**
谷甾醇 sitosterol **284,582**
γ-谷氨酰基-硒-甲基硒半胱氨酸 γ-glutamyl-Se-methyl-selenocystein, GGMSC **698**
谷氨酸 glutamic acid **449,619,826**
谷酰胺 glutamine **449**
赤芝酮 A lucidone A **442**
赤芝酸 A lucidenic acid A **442**
赤霉烷 gibberellane **305**
辛可宁 cinchonine **127**
辛可尼定 cinchonidine **127**
辛可亭 cinchotine **127**
辛诺苷 sinoside **692**
辛诺苷元 sinogenin **692**
1-邻二甲苄基-7-羟基-β-咔啉 1-o-dimethylbenzyl-7-hydroxyl-β-carboline **155**
1-邻甲基苄基-7-羟基-β-咔啉 1-o-methylbenzyl-7-hydroxyl-β-carboline **155**
针叶树醇 coniferyl alchydroxyol **677**
阿马尼新 ajmalicine **153**
阿马林 ajmaline **154**
阿朴芬 aporphine **119,670**
阿托品 atropine **136**
阿朴大戟醇 apoeuphol **424**
阿朴甘遂醇 apokanziol **424**
阿齐霉素 azithromycin **771**
阿格努苷 agnuside **188**
阿勒颇侧大戟醇 euphoreppinol **362**
阿康烷 aconane **305**
阿替生烷 atisane **305**
阿霉素 adriamycin **577,740**
阿魏酸 ferulic acid **613,677**

驱蛔素 ascaridol **179,257**
鸡矢藤次苷 scandoside **186**
鸡矢藤苷 paederoside **186**
鸡矢藤苷酸 paederosidic acid **186**
鸡血藤异黄酮 milledurone **560**
鸡肠大戟醇 sprol **362**
麦门冬皂苷B ophiopogenin B **442**
麦仙翁苷A agrostemmoside A **80**
麦仙翁苷B agrostemmoside B **85**
麦芽糖酶 maltase **414**
麦角新碱 ergometrine **1**

八 画

京尼平 genipin **185**
京尼平苷 geniposide **186**
京平尼-1-氧-龙胆双糖 genipin-1-O-gentiobioside **186**
使君子氨酸 quisqualic acid **457**
使君子氨酸钾盐 potassium quisqualate **457**
依兰烷 ylangane **199**
依托泊苷 etoposide **762**
侧柏烯 thujene **183**
侧柏酮 thujanone **183**
侧柏醇 thujanol **183**
凯林 khellin **534**
凯林内酯 khellactone **584**
刺槐苷 acaciin530,robinin **551**
刺槐素 acacetin **530**
单克隆抗体 monoclonal antibodies **820**
单萜 monoterpene **166**
单端孢菌素 trichothecin **205**
叔-亮氨酸 tetr-leucine **822**
和乌胺 demethyl coclaurine **119**
和厚朴酚 honokiol **641,651**
咖啡酸 caffeic acid **677**
固相微量提取技术 solid-phase micro extraction,SPME **292**
垂盆草苷 sarmentosin **701**
奇卡宁 chicanine **629**
奇果菌素 grifolin **652**
宝藿苷-Ⅰ bahydroxyuoside-Ⅰ **539**
宝藿苷-Ⅱ bahydroxyuoside-Ⅱ **539**
岩大戟内酯A jolkinolide A **328**
岩大戟内酯B jolkinolide B **328**
岩藻甾醇 fucosterol **284**
底宿吡丁 deserpidine **154**
庚二酸 pimelic acid **140**
性信息素 sex pheromone **271**
拓扑异构酶Ⅰ topoisomerase Ⅰ **646**
拓扑异构酶Ⅱ topoisomerase Ⅱ **132,763**
拓扑特肯 topotecan **763**
柠美内酯 limettin **590**
斧柏烷 thujopsane **199**
昆虫激素 insect hormone **270**
昌米烷 chamigrane **197**
杯苋甾酮 cyasterone **273**
松油醇 terpineol **177**
松柏醇 coniferyl alchydroxyol **613**
松香烷 abietane **305**
松香酸 abietic acid **322**
松萝酸 usnic acid **667**
松樟酮 pinocamphor **180**
果胶 pectin **501**
果聚糖 fructan **497**
欧前胡内酯 imperatorin **591**
河豚毒素 tetrodotoxin,TTX **712**
油冬青烯 sabinene **183**
油菜内酯 brassinolide **204**
油橄榄苦苷 oleuropein **189**
法呢基 farnesyl **596**
法呢基焦磷酸酯 farnesyl pyrophosphate,FPP **196**
泥炭藓酸 sphagnum acid **677**
泻花碱 catharanthine **157**
泽兰苦内酯 euparotin **210**
泽兰氧化苦内酯 eupatoroxin **210**
泽兰氧化氯内酯 eupachloroxin **210**
泽兰氯内酯 eupachlorin **210**
泽泻醇A alisol A **273**
炔诺酮 norethisterone **773**
环木脂内酯 cyclolignolide **624**
环石竹烷 cyclocaryophyllane **199**
环胞肽 cyclosporin **452**
环氧乙烷 oxirane **306**
环氧丁烷 oxetane **306**
环氧长春碱 leurosine **157**
环烯醚萜 iridoid **169**
环黄芪醇 cycloastragenol **423**
环-链互变异构 ring-chain tautomerism **492**
环蒜氨酸 cycloalliin **699**
环橙花烷 cyclonerane **196**
直立百部碱 sessilistemonine **143**
组合化学 combinatory chemistry **1**
组织培养技术 technology of tissue culture **820**
组氨酸 histidine **449**
细叶青蒌藤醌醇 futoquinol **652**
细花百部酰胺 parvistemoline **145**
细花百部碱 parvistemonine **143**
细辛素 asarinin **4**
细辛脂素 asarinin **632**
细辛脑 asarone **167**

罗汉松脂苷 matairesinoside **620**
罗汉松脂素 matairesinol **620**
罗汉松烷 podocarpane **305**
罗列酮 royleanone **330**
罗红霉素 roxithromycin **771**
育亨宾 yhydroxyimbine **153**
肾素 renin **450**
脓果香豆素甲 inflacoumarin A **593**
苔藓虫素 bryostatin **720**
苦木苦素 quassinane **424**
苦木苦素糖苷 2-*O*-glucosylsamaderine **425**
苦艾质 anabsinthin **262**
苦龙胆苷 amarogentin **189**
苦杏仁苷 amygdalin, lactrile **701**
苦杏仁酶 emulsin **414,701**
苦苏素 kosine **658**
苦参醇C kushenol C **527**
苦味毒 picrotoxin **206**
苦味毒烷 picrotoxane **200**
苦鬼臼毒素 picropodophyllotoxin **624**
苦楝素 meliacane **424**
苦獐苷 amaroswerin **189**
苯乙素苷 phenylethanoidglycoside **501**
苯乙酰辅酶 phenylacetyl-CoA **826**
苯二氢吡喃-4-酮 chromanone **608**
苯丙氨酸 phenylalanine **449,590,677**
苯丙素苷 phenylpropanoidglycoside **501**
苯丙素类 phenyl propanoids **589**
苯甲酰芍药苷 benzoylpaeoniflorin **180**
苯甲酰莨菪碱 benzoyltropein **138**
苯甲酸原酸酯 orthoesterbenzoate **366**
苯并呋喃 benzofuran **638**
苯骈吡喃酮 benzopyrone **589**
苯骈吡喃鎓离子 benzopyrylium ion **604**
苯骈喹啉 benzoquinoline **120**
2-苯基色原酮 2-phenyl-chromone **526**
苯基氨基甲酸乙酯 euphorin **368**
苯酰甲酸 phenyeglyoxylic acid **139**
茄啶 solanidine **418**
茚三酮 ninhydrin **452**
表儿茶素 epicatechin **533**
表别石胆酸 epiallo-lithocholic acid **686**
表辛可宁 epicinchonine **127**
表辛可尼定 epicinchonidine **127**
10-表-泽兰氧化苦内酯 10-epi-eupatoroxin **210**
表奎宁 epiquinine **127**
表奎尼定 epiquinidine **127**
表鬼臼毒素 epipodophyllotoxin **624**
14-表雷公藤内酯醇 14-epitriptolide **326**
14-表雌激素酮 14-epiestrone **804**
转录图谱 transcription mapping **568**
金丝桃苷 hyperin **562**
金叶树苷 monensin **824**
金决明苷 chryso-obtusin glucoside **577**
金刚大碱 croomine **143**
金合欢醇 farnesol **192**
金吉苷 kingiside **189**
金疮小草素 ajugacumbin **346**
金雀异黄素 genistein **563**
金缕梅糖 hamamelose **498**
青木香酸 debilic acid **669**
青蒿素 artemisinin **240,754,786**, qinghaosu **240**
青蒿素指数 artemisinin indices **251**
青蒿烯 artemisitene **256**
青蒿琥酯 artesunate **755**
青黛酮 qingdainone **769**
非生源协同素 apneumones **771**
非灵敏核极化转移技术 intensitive nuclei enhanced by polarization transfer, INEPT **237**
非海参烷 nonholostane **734**
顶生醌 tectoquinone **573**
鱼腥草素 decanoylacetaldehyde **1**
鱼藤酮 rotenone **532,647**

九 画

亮氨酸 leucine **449,826**
促性腺激素释放激素 gonadotropin releasing hormone, GnRH **463**
促黄体激素释放激素 leuteinizing hormone releasing hormone, LH-RH **464**
保幼酮 juvabione **204,288**
保幼激素 juvenile hormone, JH **288**
信号化合物 semiochemical **270**
前戈米辛 pregomisin **647**
前体 precursor **828**
前胡香豆素 qianhucoumarin **593**
南尧苷 wiksstroemin **530**
南岭前胡A longshengensin A **593**
厚朴酚 magnonol **641,651**
厚果唐松草碱 thialicarpine **126**
变态激素 metamorphosis hormone **270**
变性毒素 anatoxin **270**
哈帕苷 harpagide **188**
哌啶 piperidine **136**
哌啶-3,4-二羧酸 piperidine-3,4-dicarboxylic acid **128**
奎宁 quinine **127**
奎宁环 quinuclidine **128**
奎宁毒 quinicine, quinotoxine **127**

奎宁酸 quinic acid **128**
奎尼定 conchinine,quinidine **127**
奎诺糖 quinovose **498**
姜烯酚 shogaols **13**
姜酚 gingerol **652**
姜黄素 curcumine **652**
姜黄烯 curcumene **220**
姜醇 zingiberol **13**
带绿菌素 chlorophorin **655**
律草烷 humulane **197**
律草酮 humulone **666**
扁枝衣酸 evernic acid **655**
扁柏双黄酮 hinokiflavone **528**
扁桃腈 mandelonitrile **701**
指纹图谱 fingerprint spectrum **541**
枸橘内酯 poncitrin **592**
枸橘苷 poncirin **561**
柄状青霉酸 stipitatic acid **456**
柏木双黄酮 cupressuflavone **528**
染料木素 genistein **563**
染料木黄酮 genestein **2**
柔毛青霉酸 puberulonic acid **656**
柔红霉素 daunorubicin **577**
柚皮苷 naringin **561**
柠苹酸 citramalic acid **826**
柠檬烯 limonene **177,292**
柠檬酸 citric acid **831**
查尔酮 chalcone **527**
柯桃因 cotoin **653**
柯桠素 chrysarobin **575**
柯登效应 cotton effect **109**
柯楠新 corynanthine **153**
柳穿鱼苷 pectolinarin **530**
柳诺西亭 leurosidine **157**
柳诺新 leurosine **157**
柿酚 diospyrol **654**
栀子苷 jasminoidin **186**
栀子黄素 gardenin **1**
树脂大戟毒素 resiniferatoxin **366**
树脂大戟醇 resinifesnol **366**
毒毛旋花子苷 K strophanthine **681,773**
毒毛旋花苷 quabain **1**
毒毛旋花素苷 D-strophanthin **693**
毒芹碱 coniine **118**
毒扁豆碱 physostigmine **1**
毒藜碱 anabasine **101**
氟红霉素 flurithromycin **772**
氢化可的松 dihydrocortisone **773**
氢化泼尼松 hydroprednisone **773**
氢化金宁 hydrochinine **773**
氢化奎尼定 hydrochinidine **127**
洋地黄毒苷 digitoxine **773**
洋地黄毒苷元 digitoxigenin **681**
洋地黄毒糖 digitoxose **499,681**
洋地黄黄酮 digicitrin **557**
洋地黄糖 digitalose **499**
洋蓟酸 cynarine **658**
洋橄榄内酯 elenolide **189**
测定序列图谱 sequence mapping **568**
1-烃炔-2-丙烯基乙酸酯 1-alkynyl-2-propenyl acetate **298**
狭叶百部碱 maistemonine **143**
癸酰乙醛 decanoylacetaldehyde **1**
相思豆碱 abrine **152**
盾叶鬼臼素 peltatin **615**
穿心莲内酯 andrographolide **334**
突变生物合成技术 technology of mutasynthesis **820**
类胡萝卜素 carotenoid **825**
美丽红豆杉 A taxamairin A **317**
美丽红豆杉 B taxamairin B **317**
美丽红豆素 C taxamairin C **333**
美花椒内酯 xanthoxyletin **592**
美登素 maytansine **183**
胆甾醇 cholesterol **284**
β-胡萝卜素 β-carotene **834**
胡萝卜烷 carotane,daucane **198**
胡椒烷 copane **199**
胡薄荷酮 pulegone **177**
茜草素 alizarin **574**
茜根定 rubiadin **582**
茜根定-1-甲醚-3-*O*-β-樱草糖苷 rubiadin-1-methyl ether-3-*O*-β-primeveroside **583**
茜根定-1-甲醚 rubiadin-1-methyl ether **582**
茜根定-3-*O*-β-葡萄糖苷 rubiadin-3-*O*-β-glucoside **582**
茜根定-3-*O*-β-樱草糖苷 rubiadin-3-*O*-β-primeveroside **583**
茜素-2-甲醚 alizarin-2-methyl ether **574**
茯苓酸 pachymic acid **422**
茴芹内酯 pimpinellin **592**
茴香脑 anethole **167**
茴香烯二磷酸酯 farnesyldiphosphate,FPP **196**
茴香烷 farnesane **196**
茴香酮 fenchone **182**
茴香醇 fenchol **182**
茵芋苷 skimmin **590**
茵芋碱 skimmianine **127**
茵陈二炔酮 capillin **651**
茵陈二烯酮 capillone **651**
荜澄茄素 deoxycubebin **631**
荜澄茄脂素 cubebin **628**

荧光胺 fluorescamine **453**
藓草苷四甲醚 tetramethyl orientin **555**
虹彩二醛 iridodial **185**
虹彩烷 iridane **169**
虾青素 astaxanthin **824**
蚁素 iridomyrmecin **185**
贵州冬凌草素 guidongnin **353**
迷迭香酸 rosmarinic acid **677**
追踪信息素 trail pheromone **272**
逆流色谱 counter-current chromatography **20**
重组 DNA 技术 technology of DNA recombination **820**
钩樟内酯 linderalactone **213**
钩樟酮 linderone **651**
除虫菊内酯 pyrethrosin **217**
除虫菊酯 pyrethrin **190**
除疟霉素 aplasmomycin **830**
(S)-顺马鞭烯醇 (S)-*cis*-verbenol **295**
顺式异胡薄荷酮 *cis*-isopulegone **177**
顺福建茶素 E *cis*-ampelopsin E **676**
香叶基-香叶基焦磷酸 geranylgeranyl pyrophosphate, GGPP **826**
香杨梅醇 myricanol **657**
香芹酚 carvacrol **177**
香芹酮 carvone **177**
香豆草醚 coumestan **593**
香坡垒酚 hopeaphenol **652**
香茅醇 citronellol **173**
香茅醛 citronellal **173**
香柑内酯 bergapten **591**
α-香树脂烷 α-amyrin **421**
β-香树脂烷 β-amyrin **426**
香树烷 aromadendrane **199**
香桃木酮 myrtucommulon **653**
香樟子蛋白 cinnamomin **77**
香橙醇 nerol **173**
香橙醛 neral **171**
骆驼蓬碱 harmaline **152**
鬼臼乙叉苷 etoposide **625**
鬼臼甲叉苷 teniposide **625**
鬼臼毒素 podophyllotoxin **613,762,795**
鸦片黄碱 papaveraldine, xanthaline **122**
鸦胆子素 E bruceine E **425**
鸦胆亭 brucantin **425**

十 画

倍半木脂体 sesquilignans **642**
倍半萜类香豆素 sesquiterpenyl coumarins **589**
党参碱 codonopsine **135**
凋亡 apoptosis **312,722**
20S-原人参二醇 protopanaxadiol **414**
20S-原人参三醇 protopanaxatriol **423**
原小檗碱 protoberberine **120**
原可土树皮素 protocotoin **653**
原百部碱 protostemonine **136**
原纤细皂苷 protogracillin **443**
原位异头位异构 insitu anomerisation **515**
原苦苏素 protokosine **658**
原树脂大戟毒素 pro-resiniferatoxin **366**
原盾叶皂苷 protozingberenssaponin **443**
原蜘蛛抱蛋皂苷 protoaspiditrin **443**
原癌基因 oncogene **729**
唐松草丝碱 thalifasine **126**
唐松草拉平碱 thalifarapine **126**
唐松草亭碱 thalifabatine **126**
圆二色谱 circular dichroism, CD **110**
圆叶泽兰苦内酯 eupatundin **210**
席夫碱 Schiff base **759**
核糖醇 ribitol **497**
根赤壳菌素 radicicol **657**
桂皮酸 cinnamic acid **542**
桃叶珊瑚苷 aucubin **188**
桃叶珊瑚苷元 aucubigenin **185**
桃拓烷 totaran **305**
桃金娘烯醇 myrtenol **180**
桉叶内酯 eudesmanolide **200**
桉叶烷 eudesmane, selinane **197**
桉叶酮 eudesmone **259**
桉树脑 cineole **169**
桑色素 morin **563**
桦皮酸 betulinic acid **426**
梨木双黄酮 ochnaflavone **559**
氧化芍药苷 oxypaeoniflorin **180**
π-氧化樟脑 π-oxocamphor **181**
氧代对叶百部碱 oxotuberostemonine **144**
氧代百部叶碱 oxystemofoline **150**
氧代谷氨酸 ketoglutamic acid **460**
氧代脂质体 oxylipin **837**
氧代赖氨酸 oxalysine **458**
氧鎓离子 oxonium ion **604**
S-1-氨基-2-甲氧甲基吡咯烷 S-1-amino-2-methoxymethyl-pyrrolidene **300**
氨基丁酸 aminobutyric acid **449**
3-氨基丙胺基钾 potassium 3-aminopropylamide KAPA **297**
氨基甲酸酯 urethane **465**
9-氨基喜树碱 9-aminocamptothecin **765**
PTH-氨基酸 3-phenyl-2-thihydroxyydantoin-amino acid **451**
浆果赤霉素 baccatin **307**
海人草酸 kainic acid **455,712,834**

海风藤酮　kadsurenone **638**
海参素　holothurin **734**
海参烷　holostane **374**
海松烷　pimarane **305**
海胆酮　echinenone **826**
海棠果内酯　calophyllolide **594**
海葱苷甲　scillaren A **686**
海藻糖　trehalose **499**
烟曲霉素　fumagillin **204**
特尼泊苷　teniposide **726**
离子交换层析　ion exchange chromography, IEC **454**
离心分配色谱　centrifuge partition chromatography, CPC **21**
积雪草苷　asiaticoside **23,412**
胱氨酸　cystine **449**
脂多糖　lipopolysaccharide **503**
脂氧化酶　lipoxygenase **838**
脂蟾毒苷元　kesibufogenin **695**
莎草烷　cyperane **198**
莨菪烷　tropane **136**
莨菪碱　hyoscyamine **138**
莨菪醇　tropine, tropinol **139**
莫能菌素　monensin **824**
莫诺苷　morroniside **189**
莱鲍迪苷 A　rebaudioside A **352**
莲心碱　liensinine **119**
莽草毒素　anisatin **206**
莽草素　anisatin **206**
莽草素酸　anisatic acid **232**
莽草烷　anisatane **200**
莽草酸　shikimic acid **167,821**
蚕蛾醇　bombykol **292**
蚕蛾醛　bombykal **294**
诺塞甾酮　norethisterone **773**
部奎宁　meroquinene **128**
铃兰皂苷 B　convallasaponin B **441**
铃兰皂苷 D　convallasaponin D **441**
铃兰毒苷　convallatoxin **681**
铃兰葡萄糖苷 B　glucoconvallasaponin B **441**
D-高-5α-雄甾烷-3-酮　D-homo-5α-androstane-3-one **804**
高车前苷　homoplantaginin **530**
高米辛　gomisin **636,798**
高良姜素　galangin **531**
高效液相色谱法　high-performance liquid chromatography, HPLC **537**
高速逆流色谱　high speed counter current chromatography, HSCCC **21,536**
高淀粉酶　takdiastase **414**
高萜类　homoterpenes **295**
鸭脚木碱　alstonine **153**

十一画

假叶树皂苷元　ruscogenin **442**
假白榄烷　jatrophane **369,621**
假荆芥内酯　nepetalactone **185**
假麻黄碱　pseudoephedrine **129**
偏共振　offresonance **229**
兜衣酸　lobaric acid **655**
减压液相色谱　vacuum liquid chromatography, VLC **597**
匙叶桉油烯醇　spathulenol **236**
商陆皂苷甲　esculentoside A **419**
培丹　cartap **712**
基因文库　gene library **568**
基因组文库　genomic library **568**
基质辅助激光解吸电离　matrix-assisted laser desorption ionization, MALDI **103,507**
堆心菊灵　helenalin **205**
常山新碱　neodichroine **133**
常山碱　dichroine, febrifugine **132,760**
常咯啉　changrolin **134,760**
常春藤皂苷　hederin **420**
惕各酰氧基　tigloyloxy **593**
探测异核多级键连接谱　detected heteronuclear multiple-band coherence, HMBC **240**
旋转腔逆流层析　rotatory locular counter current chromatography **212**
曼西醇　myrsinol **362**
梓苷　cataposide **188**
梓醇　catapol **188**
液相色谱　liquid chromatography **8**
液滴逆流色谱　droplet counter-current chromatography, DCCC **20**
淋巴细胞杂交瘤技术　technology of hybridizable lymphosarcoma **820**
淫羊藿次苷　icariside **563**
清风藤碱　sinoacutine **124**
清藤碱　sinomenine **124**
烯丙亚磺酸　allylsulfinic acid **697**
(+)-S-烯丙基半胱氨酸亚砜　(+)-S-allylsysteine-S-oxide **697**
烯丙基酚　allylphenol **611**
烯丙硫醇　allylmercaptan **697**
烯丙硫醛　allylthioaldehyde **697**
烯醇醚　enolether **830**
馏牛儿二烯　germacradiene **219**
馏牛儿内酯　germacranolide **200**
馏牛儿基　geranyl **596**
馏牛儿基二磷酸酯　geranyl diphosphate, GPP **169**
馏牛儿基馏牛儿醇焦磷酸酯　gerenylgerenyl diphosphate

310
愈牛儿烷 germacrane 197
5S,8S-愈牛儿烷-1E,6E-二烯-5-醇 5S,8S-germacran-1E,6E-dion-5-ol 240
猪苓酸 polyporenic acid 422
甜叶悬钩子苷 rubusoside 359
甜菊苷 stevioside 352
甜菊醇 steviol 356
甜菜碱 betaine 298
硃砂莲苷 tuberosinone-N-β-D-glucoside 655
硃砂莲素 tuberosinone 655
硅钨酸 silico-tungstic acid 116
硅氧环 siloxane 14
硅醇 silanol 14
硅藻酸 domoic acid 834
硒-甲基硒半胱氨酸 Se-methylselenocysteine MSC 698
粗橙皮苷酶 crude hesperidase 414
续随子二萜醇 lathyrol 362
续随子烷 lathyrane 362
维尔朋胺 velbenamine 157
绵马根酸 filixic acid 665
绵马酚 aspidinol 664
绵马精酸 filicinic acid 665
7-羟基二氢芝麻脂素 7-hydroxydihydrosesamin 628
16-羟基大戟二萜醇 16-hydroxyphorbol 362
羟基马桑内酯 tutin 206
6-羟基白芷内酯 heratonol 592
羟基白藜芦醇 hydroxyresveratrol 655
羟基异喹啉 hydroxyisoquinoline 130
5-羟基邪蒿内酯 5-hydroxyseselin 592
3-羟基谷氨酸 3-hydroxyglutamic acid 834
2′-羟基细辛素 2′-hydroxyasarinin 633
羟基毒芹碱 conhydrine 118
羟基洋地黄毒苷元 gitoxigenin 681
6-羟基茜根定 6-hydroxy-rubiadin 583
羟基积雪草苷 madecassoside 23,412
羟基斑蝥素 N-hydroxycantharidine 768
羟基斑蝥胺 N-hydroxylcantharidimide 192
20-羟基蜕皮素 20-hydroxyecdysone 286
16-羟基雷公藤内酯醇 16-hydroxytriptolide 323
3-羟基-5-羧基苯甲酸 3-hydroxy-5-carboxyl benzoic acid 155
羟脯氨酸 hydroxyproline 449
脯氨酸 proline 449
脱皮酮 ecdysone 272
脱氢对叶百部碱 bisdehydrotuberostemonine 151
脱氢百部新碱 bisdehydrostemoninine 150
脱氢细花百部碱 bisdehydroparvistemonine 145
脱氢膜海鞘素 B aplidine 711
脱落酸 abscisic acid ABA 201
菖蒲烷 acorane 197
拔契皂苷元 sarsasapogenin 437
萘基丙氨酸 naphthylalanine,Nal 450
α-萘菲啶 α-naphthaphenanthridine 120
萝卜苷 glucoraphenin 700
萝古斯亭 raugustine 154
萝尼生 raunescine 154
蛇根双碱 serpentinine 153
蛇根碱 serpentine 153
蛇麻酮 humulone 666
蛋白聚糖 proteoglycan 503
蛋白激酶 C protein-kinase C 677
蛋氨酸 methionine 449,826
蛋黄素 vitellin 288
鄂西香茶菜甲素 kamebakaurin 359
酞酰亚胺钾 potassium phthalimide,K-NPht 459
野百合碱 monocrotaline 135
野樱苷 prunasin 701
银杏内酯 ginkgolide 378
银杏黄素 ginkgetin 528
银杏酸 ginkgoic acid 651
隐丹参酮 cryptotanshinone 330
隐性刺激 cryptic irritant 363
隐杯伞素 illudin 204
隐品碱 cryptopine 120
隐黄质 cryptoxanthin 708
雪松烯 cedrene 220
雪松烷 cedrane,himachalane 198
雪胆甲素苷 cucurbitacin glucoside 424
雪胆素 cucurbitacin 434
鹿尾草定 salsolidine 119
鹿尾草碱 salsoline 119
麻黄灵 A mahuannin A 533
麻黄灵 B mahuannin B 533
麻黄碱 ephedrine 1
黄夹次苷乙 herifoline 695
黄夹次苷甲 peruvoside 695
黄夹次苷丁 perusitin 695
黄夹次苷丙 ruvoside 695
黄夹糖 thevetose 684
黄曲霉素 aflatoxin 596
黄体生成激素 luteinizinghormone,LH 596
黄芩苷 baicalin 551
黄芩素 baicalein 791
黄芪苷 astragaloside 563
黄芪苷Ⅰ astragaloside Ⅰ 423
黄芪苷Ⅳ astragaloside Ⅳ 423
黄芪苷Ⅶ astragaloside Ⅶ 423
黄花夹竹桃苷 thevetin 694

黄豆黄素 glycitein **564**
黄连素 berberine **120**
黄柏苷 phellamurin **531**
黄氧素 xanthoxin **201**
黄素 flavin **832**
黄绵马酸 flavaspidic acid **665**
黄棓醇 flavogallol **654**
黄酮 flavone **527**
黄酮醇 flavonol **527**
黄樟醚 safrole **615**
黄檀异黄酮苷 volubilin **555**

十二画

喜柏双黄酮 cupressuflavone **558**
喜树碱 camptothecin **132,763,780**
4-喹唑酮-3-乙酸 4-quinazolone-3-acetic acid **133**
喹唑 quinazoline **136**
喹唑酮 quinazolone **133**
喹啉 quinoline **128**
强心酚 cardol **652**
提果皂苷元 tigogenin **437**
斑点酸 stictic acid **655**
斑蝥素 cantharidin **192,767**
斑蝥黄 canthaxanthin **826**
普罗托品 protopine **119**
普鲁卡因 procaine **116**
景天庚酮糖 sedhydroxyeptulose **498**
棉酚 gossypol **654**
植物抗毒素 phytoalexin **676**
植物毒素 phytotoxin **676**
植物蜕皮素 phytoecdysones **273**
棕榈酸 palmatic acid **703**
氮杂黄 azaazulene **143**
β-氯氢化茛若酸 β-chlorhydroxyydroatropic acid **139**
氯原酸 chlorogenic acid **652**
氯喹 chloroquine **206**
氯霉素 chloramphenicol **826**
氰化铁钾 potassium hexacyanoferrate **618**
溲疏苷 deutzioside **186**
琥珀酰胺氨酸 succinamopine **459**
琥珀酸氨酸 succinopine **460**
琥珀酸氨酸内酰胺 succinopine lactam **459**
琥珀酸酯 succinate **830**
番红素血 lycopenamia **707**
番泻苷 sennoside **575**
番泻苷元 A sennidin A **575**
番泻苷元 B sennidin B **575**
番茄红素 lycopene **707**
短杆菌肽 gramicidine **448**
1-硝基芘 1-nitropyrene,1-NP **587**
9-硝基喜树碱 9-nitrocamptothecin **765**
硫黄菊素 sulfuretin **534**
硬脂酸 steric acid **703**
筋骨草内酯 ajugalactone **273**
筋骨草甾酮 G ajugasterone G **273**
紫红素 purpurin **576**
abeo-紫杉烷 abeo-taxane **307**
紫杉烷 taxane **305**
紫杉烷类二萜 taxoids **305**
紫杉碱 A taxin A **306**
紫杉醇 paclitaxel),taxol **305,766**
紫杉醚 taxotere **308,766**
紫花杜鹃甲素 matteucinol **530**
紫花洋地黄苷 purpuea glycoside **681**
紫草素 shikonin **1**
紫草酸 lithospermic acid **677**
紫蜂斗菜素 petasin **207**
紫檀素 pterocarpin **532**
联苯双酯 bifendate **647,756**,biphenyldicarboxylate **1**
联苯环辛烯 dibenzocyclooctene **636**
腊梅苷 meratin **531**
舒心啶 sulcadine **761**
落叶松树脂醇 lariciresinol **613**
葑烷 fenchane **169**
葛根素 puerarin **565**
葛根素木糖苷 puerarin xyloside **527**
葡聚糖 glucan **497**
葫芦烷 cucurbitane **424**
蒂巴因 thebaine **121**
蒈烯 carene **182**
蒈烷 carane **169**
蒈酮 carone **182**
蒎烯 pinene **180**
蒎烷 pinane **169**
裂环环烯醚萜 seco-iridoid **183**
裂环愈创木烷 secoguaiane **197**
超声提取技术 ultrasonic extraction,UE **536**
超临界层析 supercritical fluid chromatography,SFC **384**
超临界流体萃取 supercritical fluid extraction,SFE **4,384,536**
超滤法 ultrafiltration,UF **536**
道蚊二醛 dolichodial **185**
道诺红菌素 daunorubicin **577**
链蝻孢素 catenarin **576,795**
阔叶千里光次碱 platynecine **135**
阔叶千里光碱 platyphylline **135**
雅槛蓝烷 eremophilane **198**
鲁山冬凌草乙素 lushanrubescensin B **351**

鲁山冬凌草甲素 lushanrubescensin A **351**
鲁橘内酯 luvangetin **592**
鹅去氧胆酸 chenodeoxycholic acid **773**

十三画

催产素 oxytocin **461**
微波萃取 microwave extraction, ME **538**
微囊藻毒素 microcystin **812,826**
愈创木内酯 guaianolide **200**
愈创木烷 guaiane **198**
愈疮木英 guaiazulene **261**
新丁子香烯 neoclovene **220**
新木天蓼醇 neomatatabiol **185**
新木脂体 neolignan **611**
新对叶百部碱 neotuberostemonine **151**
新生霉素 novobiocin **594**
新异甘草苷 neoisoliquiritin **539**
新芸苔苷 neoglucobrassicin **700**
新莽草素 neoanisatine **232**
新雷公藤内酯四醇 neotriptetraolide **326**
新橙皮苷 neohesperidoside **530**
楸毒素 rottlerin **657**
榄香烯 elemene **2**
榄香烷 elemane **219**
榄烷 clemane **196**
榄烷内酯 elemanolide **200**
β-溴苯乙酮酯 β-bromophenacyl ester **703**
溴麝香酚兰 bromothymol blue **703**
滇百部碱 stemotinine **143**
滨蒿内酯 scoparone **591**
瑞香内酯 daphnetin **591**
瑞香烷 daphnane **362**
睡菜苷 foliamenthin **189**
硼霉素 boromycin **830**
福建茶素 ampelopsin **675**
N-羧基酸酐 N-carboxyanhydride, NCA **452**
腰果酸 anacardic acid **651**
蒜氨酸 alliin **697**
蒜辣素 allicin **697**
蒜酶 allicinase **697**
蒸发光散射检测器 evaporative light scattering detector, ELSD **384**
蒿甲醚 artemether **754**
蒿琥酯 artesunate **755**
蓝桉醇 globulol **240**
蜂斗菜内酯 bakkenolide **200**
蜕皮甾醇 ecdysterone **273**
蜕皮素 ecdysone **272**
蜕皮酸 ecdysonoic acid **284**
赖氨酸 lysine **449**
酪氨酸 tyrosine **449,590,677**
酮戊二酸 ketoglutarate **832**
酮糖 ketose **490**
酯氧三醇 A lipoxin A **777**
锦葵素 malvidin **533**
雷公藤乙素 tripdiolide **322**
雷公藤二萜 triptolidane **322**
雷公藤内酯 triptolide **788**, triptolidenol **323**
雷公藤内酯二醇 tripdiolide **322**
雷公藤内酯三醇 triptriolide **323**
雷公藤内酯酮 triptonide **323**
雷公藤甲素 triptolide **322**
雷公藤氯内酯醇 tripchlorolide **323**
雷公藤溴内酯醇 tripbromolide **326**
雷氏铵盐 reineckate ammonium **117**
频哪醇-频哪酮 pinacol-pinacolone **597**
鼠李素 rhamnetin **531**
鼠李糖基泽羊蕊次苷-Ⅱ rhamnosylicariside-Ⅱ **539**

十四画

寡糖 oligosaccharide **499**
拷象 conformation **459**
榕碱 ficine **527**
槟榔碱 arecoline **4**
漆酚 urushiol **652**
獐芽菜苦苷 swertiamarin **189**
獐芽菜苷 sweroside **189**
碳酸乙酯 ethylcarbonate **770**
精氨酸 arginine **449,826**
缩酚肽 depsipeptide **806**
罂粟壳碱 narcotoline **121**
罂粟碱 papaverine **119,532**
聚乙二醇 polyethylene glycol, PEG **566**
聚乙酰衍生物 polyketide **831**
聚丙烯酰胺 polyacrylamide **461**
聚伞花素 cymene **167**
聚维酮 povidone, PVP **566**
聚酰胺 polyamide **19**
蔊菜素 rorifone **699**
蔊菜酰氨 rorifamide **700**
蔓生百部碱 stemonamine **144**
蜘蛛抱蛋皂苷 aspiditrin **443**
辣椒红 capsanthin **708**
辣椒素 capsaicin(e) **708**
辣椒辣素 capsaicin(e) **652**
雌诱素 sirenin **204**

十五画

噢呫 aurone **527**

槲皮素 quercetin **562**
樟柳碱 anisodine **138**
樟柳酸 **141**
樟脑-10-磺酸 camphor-10- sulfonic acid,CSA **176,393**
樟脑 camphor **181**
樟烯 camphene **181**
樟烷 camphane **169**
樟醇 camphol **181**
橄榄烷 maaliane **199**
缬草素 valepotriate **186**
缬草烷 valerane **198**
缬氨酸 valine **449,822**
缬氨霉素 valinomycin **448**
蝠蛾酮 hepialone **294**
鹤虱烷 carabrane **197**
鹤草酚 agrimophol **653**
鹤草醇 agrimonol **652**

十六画

噻吩丙氨酸 thienylalanine,Thi **450**
橙皮苷 hesperidin **551**
橙纯叶决明素 aurantio-obtusin **577**
橙花叔醇 nerolidol **258**
橙花烯二磷酸酯 nerolidyldiphosphate,NPP **196**
橙钝新素 aurantio-obtusin **577**
激子 exciton **111**
激子手性法 exciton chirality method **111**
激子偶合 exciton coupling **111**
激素 hormone **271**
磺基丙氨酸 cysteic acid **699**
1-磺基芸苔苷 1-sulfo-3-indolylmethyl glucosinolate **700**
薄荷二烯酮 piperitenone **177**
薄荷呋喃 menthofuran **177**
薄荷烯酮 piperitone **177**
薄荷烷 menthane **169**
薄荷酮 menthone **177**
薄荷醇 menthol **175,786**
薏仁酯 coixenolide **703**
薏苡酰胺 coixol **651**
薯蓣皂苷 dioscin **418**
薯蓣皂苷元 diosgenin **439**
薯蓣皂苷元双葡萄糖苷 diosgenin-diglucoside **441**
靛玉红 indirubin **768**
鞘蕊花素 forskolin **334**
颠茄皂苷 aculeatiside **444**
颠茄碱 belladonnine **138**

十七画

嚏根草苷元 hellebrigenin **695**
檀香烷 santalane **198**
爵床素 justicin **647**
磷钨酸 phosphorotungstic acid **116**
磷酸丙糖异构酶 triosephate isomerase **821**
磷酸甘油醛 glyceraldehyde-3-phosphate **836**
磷酸烯醇丙酮酸 phosphoenolpyruvate **821**
繁缕环肽 A stellarin A **92**
螺二烯酮 spirodienone **644**
螺环-[4,4]-壬烷 spiro-[4,4]-nonane **378**
螺旋甾烷 spirostane **437**
螺旋缩酮内酯 spiroketallactone **330**

十八画

翻译后修饰 post translational modification **448**
藤桔亭 luvangetin **592**
蜈蚣菊内酯 wedelolactone **593**
鞣花酸 ellagic acid **654**
鳍藻毒素 dinophysistoxin DTX **831**
鹰爪素 yingzhaosu **259**

十九画

藻酸双酯钠 alginic sodium diester PPS
蟾毒它灵 bufotalin **695**
蟾毒灵 bufalin **695**

二十一画

麝香酮 muscone **705**

附录二　英文主题索引

(Object Index in English)

A

abeo-taxane abeo　紫杉烷　**307**
abietane　松香烷　**305**
abietic acid　松香酸　**322**
abrine　相思豆碱　**152**
abscisic acid　脱落酸 ABA　**201**
abudinol B　**727**
abutasterone　**273**
abzyme　抗体酶　**821**
acacetin　刺槐素　**530**
acaciin　刺槐苷　**530**
acanthodorane　**199**
acetioallobillianic acid　初别胆甾酸　**437**
acetiobillianic acid　初胆甾酸　**437**
3-acetoxy-pregna-5,16-dien-20-one　3β 乙酰氧基-孕甾-5,16-二烯-20-酮　**439**
acetylshengmanolxyloside　乙酰升麻醇木糖苷　**414**
6-acetyl-7-deacetyl forskolin　6-乙酰-7-去乙酰鞘蕊花素　**342**
aconane　阿康烷　**305**
aconitine　乌头碱　**116**
acorane　菖蒲烷　**197**
aculeatiside　颠茄皂苷　**444**
acutilol A　**713**
acutilol B　**713**
adociasulfates　**726**
adriamycin　阿霉素　**577,740**
aervanone　**555**
aflatoxin　黄曲霉素　**596**
africanane　**199**
agathisflavone　贝壳杉双黄酮　**558**
agnuside　阿格努苷　**188**
agosterol A　**724**
agrimol C　仙鹤草酚 C　**653**
agrimonol　鹤草醇　**652**
agrimophol　鹤草酚　**653**
agrostemmoside A　麦仙翁苷 A　**80**
agrostemmoside B　麦仙翁苷 B　**85**
ailanthondol　**644**
ajmalicine　阿马尼新　**153**
ajmaline　阿马林　**154**
ajugacumbin　金疮小草素　**346**
ajugalactone　筋骨草内酯　**273**
ajugamarin　**346**
ajugasterone G　筋骨草甾酮 G　**273**
akaterpin　**267**
alanine　丙氨酸　**449**
alantolactone　土木香内酯　**214**
alarmpheromone　告警信息素　**272**
albaspidine　白绵马醇　**665**
albiflorin　芍药内酯苷　**180**
alertenone　**262**
alginicsodiumdiester　藻酸双酯钠,PPS　**712**
algoane　**202**
alisol A　泽泻醇 A　**273**
alizarin　茜草素　**574**
alizarin-2-methylether　茜素-2-甲醚　**574**
1-alkynyl-2-propenylacetate　1-烃炔-2-丙烯基乙酸酯　**298**
allelochemicals　交互化合物,它感化合物　**271**
alliacane　**198**
allicinase　蒜酶　**697**
allicin　蒜辣素　**697**
alliin　蒜氨酸　**697**
allitride　大蒜新素　**1,698**
allocedrane　**200**
allocholic acid　别胆酸　**686**
allohimachalane　**198**
α-allokainic acid　异海人草酸　**455**
allolaurentinol　**202**
allomone　利己素　**271**
allo-securinine　别-叶萩碱　**136**
alloyhydroxyimbine　别育亨宾　**153**
allylphenol　烯丙基酚　**611**
allylthioaldehyde　烯丙硫醛　**697**
allylmercaptan　烯丙硫醇　**697**
allylsulfinic acid　烯丙亚磺酸　**697**
(+)-S-allylsysteine-S-oxide　(+)-S-烯丙基半胱氨酸亚砜　**697**
aloe-emodin　芦荟大黄素　**575**
aloe-emodin-8-O-β-D-glucopyranoside　芦荟大黄素-8-O-β-D-吡喃葡萄糖苷　**575**
aloin　芦荟苷　**575**
alstonine　鸭脚木碱　**153**
Alzheimer's disease　老年痴呆症,AD　**758**
amarilin　**206**
amarogentin　苦龙胆苷　**189**
amaroswerin　苦獐苷　**189**
amarsterone　**274**

americanol A **641**
aminobutyric acid 氨基丁酸 **449**
9-aminocamptothecin 9-氨基喜树碱 **765**
aminosterols **718**
ampelopsin 福建茶素 **675**
amphidinoketide **830**
amphidinolide **832**
amygdalin 苦杏仁苷 **701**
α-amyrin α-香树脂烷 **426**
β-amyrin β-香树脂烷 **421**
anabasine 毒藜碱 **101**
anabsinthin 苦艾质 **262**
anacardic acid 槚如酸,腰果酸 **651**
anatoxin 变性毒素 **828**
andrimid **822**
andrographolide 穿心莲内酯 **334**
anethole 茴香脑 **167**
angelic acid 当归酸 **660**
angelicone 当归酮,当归内酯 **590**
angeloyloxy 当归酰氧基 **593**
angelicin 白芷内酯 **592**
anigorufon **674**
anisatane 莽草烷 **200**
anisatic acid 莽草素酸 **232**
anisatin 莽草毒素,莽草素 **206**
anisodamine 山莨菪碱 **138**
anisodine 樟柳碱 **138**
anodrin 双炔失碳酯 **773**
anomeric C-atom 异头碳 **492**
anomeric center 异头中心 **492**
anomeric effect 异头碳效应 **493**
anthocyanidin 花色素 **528**
anti-ecdysterone 抗蜕皮激素 **283**
anti-juvenile hormone 抗保幼激素 **290**
anwulignan 安五脂素 **617**
apigenin 芹菜素 **530**
apiin 芹菜苷 **530**
apiose 芹菜糖 **552**
aplasmomycin 除疟霉素 **830**
aplidine 脱氧膜海鞘素 B **711**
apneumones 非生源协同素 **271**
apocuphol 阿朴大戟醇 **424**
apokanziol 阿朴甘遂醇 **424**
apopicropodophyllin 失水苦鬼臼脂素 **616**
apoptosis 凋亡 **312,722**
aporphine 阿朴芬 **119,670**
apotropine 去水阿托品 **138**
apotropic acid 去水莨菪酸 **139**
apressin **227**
aquaticol **261**
aqueous two phase extraction 双水相萃取技术,ATPE **536**
arachidonic acid 花生四烯酸 **840**
arctigenin 牛蒡子苷元 **614**
arctiin 牛蒡子苷 **620**
arecoline 槟榔碱 **4**
arginine 精氨酸 **826**
argyrolobine **15**
aristolane 马兜铃烷 **199**
aristolic acid **669**
aristolochic acid 马兜铃酸 **655**
aristololactam 马兜铃内酰胺 **655**
aristololactam-*N*-β-D-glucoside **655**
aristophyllane **196**
aristoterpane 马兜铃萜烷酸 **197**
aritasone 土荆芥酮 **180**
arnicolide **225**
aromadendrane 香树烷 **199**
artanomaloids **261**
arteannuin H **259**
arteglasin **205**
arteinculone **258**
artemether 蒿甲醚 **754**
artemin **215**
arteminolide **207**
artemisiifolin **216**
artemisinin 青蒿素 **240,754,786**
artemisinin indices 青蒿素指数 **251**
artemisitene 青蒿烯 **256**
artesunate 蒿琥酯,青蒿琥酯 **755**
artselenoide **262**
asarinin 细辛素 **4**,细辛脂素 **632**
asarone 细辛脑 **167**
ascaridol 驱蛔素 **179,257**
ascofuranol 壳二孢呋喃醇 **657**
asiaticoside 积雪草苷 **23,412**
asparagamine A **150**
asparagine 门冬酰胺 **449**
aspartic acid 门冬氨酸 **449**
asperuloside 车叶草苷 **186**
aspidinol 绵马酚 **664**
aspiditrin 蜘蛛抱蛋皂苷 **443**
aspidospermine 白坚木碱 **157**
assafulvenal **261**
astaxanthin 虾青素 **824**
asterasterol A **717**
asteriidoside **717**
asteriscane **199**
astragaloside 黄芪苷 **563**

astragaloside Ⅰ 黄芪苷Ⅰ 423
astragaloside Ⅳ 黄芪苷Ⅳ 423
astragaloside Ⅶ 黄芪苷Ⅶ 423
atisane 阿替生烷 305
atractylenolactam 265
atranolin 665
atropamine 去水阿托品 138
atropine 阿托品 136
aucubigenin 桃叶珊瑚苷元 185
aucubin 桃叶珊瑚苷 188
aurantio-obtusin 橙钝新素,橙纯叶决明素 577
aurantoside C 726
aurone 噢哚 527
austrobailignan-7 629
autumnariniol 593
averantin 576
averythrin 576
awabukinal 260
axinellamine 726
azaazulene 氮杂萬 143
azadirachtin 印楝素 424
azithromycin 阿齐霉素 771

B

baccatin 浆果赤霉素 307
baccharin 巴卡林 205
baccharinol 205
badion A 654
baicalein 黄芩素 791
baicalin 黄芩苷 551
bakkane 198
bakkenolide 蜂斗菜内酯 200
balancarpol 676
baohuoside-Ⅰ 宝藿苷-Ⅰ 539
baohuoside-Ⅱ 宝藿苷-Ⅱ 539
barangamide A 728
barbalane 197
barbamide 830
batatesin 677
bayogenin 428
bazzanin 675
beiwujiapi glycoside 杠柳苷 693
belladonnine 颠茄碱 138
benchequiol 620
bengamide 725
bengazole 726
benkarlane 199
benzofuran 苯并呋喃 638
benzopyrone 苯骈吡喃酮 589
benzopyryliumion 苯骈吡喃鎓离子 604
benzoquinoline 苯骈喹啉 120
benzoylpaeoniflorin 苯甲酰芍药苷 180
benzoyltropein 苯甲酰莨菪碱 138
benzylisoquinoline 苄基异喹啉 119
berberine 黄连素,小檗碱 120
bergamotane 佛手柑烷 197
bergapten 香柑内酯 591
betaine 甜菜碱 298
betulifol 675
betulinic acid 白桦脂酸 426,704
beyerane 贝叶烷 305
biatractylolide 双白术内酯 261
(4S,5R)-2,4-bibenzol-5-oic acid (4S,5R)-2,4-二苯基唑-5-羧酸 315
bicoumastechamin 594
bicyclhydroxyhumulane 二环律草烷 197
bicycloelemane 二环榄烷 197
bicyclofarnesane 双环金合欢烷 197
bicyclogermacrane 二环愧牛儿烷 197
bicyclovetivane 198
bifendate 联苯双酯 647,756
bifurcatin 713
bilobalide 白果内酯 378
bilobetin 白果素 528
bionidin 628
bipbenyldicarboxylate 联苯双酯 1
bis-α,ω-aminoal cohalglycoside 730
bisabolane 没药烷 196
bisabolene 没药烯 220
bisacutifolone 262
bisbenzylisoquinoline 双苄基异喹啉 119
bisdehydroneostemonine 149
bisdehydroneotuberostemonine 151
bisdehydroparvistemonine 脱氢细花百部碱 145
bisdehydroprostemonine 149
bisdehydrostemoninine 脱氢百部新碱 150
bisdehydrotuberostemonine 脱氢对叶百部碱 151
bisezakyne 202
bistheonide 830
bolinaquinone 263
bombykal 蚕蛾醛 294
bombykol 蚕蛾醇 292
borneol 龙脑 181
boromycin 硼霉素 830
borophycin 830
boschnaloside 肉苁蓉苷 186
bosseopentaenoic acid 842
botrydiane 198

brasilane **198**
brassinolide 油菜内酯 **204**
braylin 布拉易林 **592**
brevetoxin 红潮毒素 **824**
breviscapine 灯盏花素 **562**
brevitaxin **317,645**
β-bromophenacylester β-溴苯乙酮酯 **703**
bromothymolblue 溴麝香酚兰 **703**
bruceantin 鸦胆亭 **425**
bruceine E 鸦胆子素 E **425**
bryostatin 苔藓虫素 **720**
bufalin 蟾毒灵 **695**
bufotalin 蟾毒它灵 **695**
bulbophyllin **675**
busalicifol **628**
busaliol **628**

C

cacospongionolide F **727**
cadinane 杜松烷 **197**
cadinanolide 杜松内酯 **200**
cadinene 杜松烯 **713**
caffeic acid 咖啡酸 **677**
calamene 卡拉烯 **259**
calanolide A **594**
calcigeroside B **734**
callinecdysone **278**
calongsterone **274**
calophyllolide 海棠果内酯 **594**
camphane 樟烷 **169**
camphene 樟烯 **181**
campherenane **198**
camphol 樟醇 **181**
camphor 樟脑 **181**
camphor-10- sulfonic acid 樟脑-10-磺酸,CSA **176,393**
camptothecin 喜树碱 **132,763,780**
cannabichromene 大麻环萜酚 **656**
cannabichromenic acid **656**
cannabicyclol **656**
cannabidiol 大麻二酚 **656**
cannabidiolic acid 大麻二酚酸 **656**
cannabigerol **656**
cannabigerolic acid **656**
cannabinol 大麻酚 **656**
cannabisin **644**
cannogenin **694**
cantharidin 斑蝥素 **192,767**
canthaxanthin 斑蝥黄 **826**
capillary electrophoresis 毛细管电泳 **463**
capillin 毛蒿素,茵陈二炔酮 **651**
capillone 茵陈二烯酮 **651**
capitasterone **274**
capnellane **199**
capsaicin(e) 辣椒素 **652,707**
capsanthin 辣椒红 **708**
carabrane 鹤虱烷 **197**
carane 蒈烷 **169**
carchamosterone **274**
cardol 强心酚 **652**
carene 蒈烯,长松针烯 **182**
carone 蒈酮,长松针酮 **182**
carotane 胡萝卜烷 **198**
β-carotene β-胡萝卜素 **836**
carotenoid 类胡萝卜素 **825**
carpalasionin **361**
carpesterol **274**
cartap 巴丹,培丹 **712**
carvacrol 香芹酚 **177**
carvone 香芹酮 **177**
caryolnanol **220**
caryophyllane 石竹烷 **197**
caryophyllin 石竹素 **220**
casbane 西松烷 **362**
cassane 卡山烷 **305**
catapol 梓醇 **188**
cataposide 梓苷 **188**
catechin 儿茶素 **533**
catenarin 链蠕孢素 **576,795**
catharanthine 泻花碱 **157**
cecropia **204**
cedalene **220**
cedilanid 西地兰 **681,773**
cedrane 雪松烷 **220**
cedrene 雪松烯 **220**
cellubiose 纤维二糖 **673**
cellulase 纤维素酶 **414**
centrifuge partition chromatography 离心分溶色谱,离心分配色谱,CPC **21**
cephalomannine 三尖杉宁碱 **307**
cephalosporine 头孢菌素 **712**
cephalostatine **773**
cepharanthine 千金藤素 **7**
cerberin 乙酰黄夹次苷元 **695**
cerellastatins A **724**
chalcone 查尔酮 **527**
chamigrane 昌米烷 **197**
changrolin 常咯啉 **134,760**
chasnaroline **620**

cheilanthone **274**
chelerythrine 白屈菜红碱 **120**
chemical ionization 化学电离,化学源,CI **507**
chemotaxonomy 化学分类学 **115**
chenensis **627**
chenodeoxycholic acid 鹅去氧胆酸 **773**
chenopodane **197**
chicanine 奇卡宁 **629**
chicine **216**
chiloscyphane **198**
chitosans 壳聚糖 **566**
chlamydocin **814**
chloramphenicol 氯霉素 **826**
β-chlorhydroxydroatropic acid β-氯氧化莨菪酸 **139**
3-chloro-5-keto-3, 4-pyrrolidene-2-carboxylic acid **449**
chlorodepxyspongiaquinone **263**
chlorogenic acid 氯原酸 **652**
chloronectrin **657**
chlorophorin 带绿菌素 **655**
chloroquine 氯喹 **206**
chlorospongiaquinol **263**
cholesterol 胆甾醇 **284**
chondraminde D **834**
chromanone 苯二氢吡喃-4-酮 **608**
chromone 色酮 **598**
chromonocoumarin 色原酮香豆素 **589**
chrymoranolide **200**
chrysarobin 柯桠素 **575**
chryso-obtusin 甲基纯叶决明素 **577**
chryso-obtusin glucoside 金决明苷 **577**
chrysophanein 大黄酚甘 **574**
chrysophanic acid 大黄根酸 **574**
chrysophanol 大黄酚 **574**
chrysophanol-1-*O*-β-D-glucopyranoside 大黄酚-1-*O*-β-D-吡喃葡萄糖苷 **579**
chrysophanol-8-*O*-β-D-6′-*O*- galloyl-glucopyranoside 大黄酚-8-*O*-β-D-6′-*O*-没食子酰-吡喃葡萄糖苷 **579**
chrysophanol-8-*O*-β-D-glucopyranoside 大黄酚-8-*O*-β-D-吡喃葡萄糖苷 **579**
chrysotalunin **127**
chuanxingzine 川芎嗪 **1**
cinchamidine **127**
cinchonidine 辛可尼定 **127**
cinchonifine **127**
cinchonine 辛可宁 **127**
cinchotine 辛可亭 **127**
cineole 桉树脑 **169**
cinerin 瓜菊酯 **190**
cinnamic acid 肉桂酸 **542,611**
cinnamomin 香樟子蛋白 **77**
cinnamophiline **617**
cinnamyl alchydroxyol 肉桂醇 **611**
circular dichroism 圆二色谱 CD **110**
cis-ampelopsin E 顺福建茶素 E **676**
cis-isopulegone 顺式异胡薄荷酮 **177**
(S)-cis-verbenol (S)-顺马鞭烯醇 **295**
cis-vitisin A **676**
citramalic acid 柠苹酸 **826**
citric acid 柠檬酸 **831**
citronellal 香茅醛 **173**
citronellol 香茅醇 **173**
cladinose 克拉定糖 **770**
claraenone **713**
clarithromycin 克拉霉素 **772**
claviol **202**
clavulinin **265**
clemane 榄烷 **196**
clemaphenol A **634**
clerodane 克罗烷 **305**
clerodin **345**
clovane 丁子香烷 **200**
clovene 丁子香烯 **220**
cnidimarin **595**
cnidimonal **595**
cocaine 可卡因 **116**
codeine 可待因 **121**
codonopsine 党参碱 **135**
coixenolide 薏仁酯 **703**
coixol 薏苡酰胺 **651**
collinusin **627**
columbianetin 二氢欧山芹醇 **605**
combinatory chemistry 组合化学 **1**
computer chemistry 计算机化学 **1**
conchinine 奎尼定 **127**
conformation 博象 **459**
conhydrine 羟基毒芹碱 **118**
coniferyl alchohol 松柏醇 **613,677**
coniine 毒芹碱 **118**
conotoxin 芋螺毒素 **711**
convallasaponin B 铃兰皂苷 B **441**
convallasaponin D 铃兰皂苷 D **441**
convallatoxin 铃兰毒苷 **681**
copabornane **200**
copane 胡椒烷 **199**
corylifolin 补骨脂甲素 **548**
corylifolinin 补骨脂乙素 **548**
corynantheal **131**
corynanthine 柯楠新 **153**

costunolide 土木香内脂 **206**
cotoin 柯桃因 **653**
cotton effect 柯登效应 **109**
coumestan 香豆草醚 **593**
coumurrayin 九里香豆素 **590**
counter-current chromatography 逆流色谱 **20**
crellastatin **717**
crellisin A **634**
croomine 金刚大碱 **143**
cross conjugated dienone 交叉共轭双稀酮 **363**
crotonfactor S 巴豆因子 S **363**
crotonoil factor A_1 巴豆油因子 A_1 **363**
crude hesperidase 粗橙皮苷酶 **414**
6-*C*-rutiosy lacacetin 6-*C*-芸香糖基刺槐素 **561**
cryptic irritant 隐性刺激 **363**
cryptopine 隐品碱 **120**
cryptotanshinone 隐丹参酮 **330**
cryptoxanthin 隐黄质 **708**
cubebane 毕澄茄烷 **199**
cubebin 荜澄茄脂素 **628**
cucumane **199**
cucurbitacin 雪胆素 **424**
cucurbitacin glucoside 雪胆甲素苷 **424**
cucurbitane 葫芦烷 **424**
cunniane **197**
cuparane 花侧柏烷 **197**
cupressu flavone 柏木双黄酮 **528,558**
curcumene 姜黄烯 **220**
curcumine 姜黄素 **652**
curvalarin **657**
cuscohygrine 红古豆碱 **135**
cyanidin 矢车菊素 **533**
cyanopeptolin **827**
cyasterone 杯苋甾酮,川牛膝甾酮 **273**
cyclamide **728**
cyclamin 西克拉明皂苷 **414**
cyclamiretin A 西克拉明苷元 A **414**
cycloalliin 环蒜氨酸 **699**
cycloastragenol 环黄芪醇 **423**
cyclocaryophyllane 环石竹烷 **199**
cyclolignolide 环木脂内酯 **624**
cyclonerane 环橙花烷 **196**
cyclosporin 环胞肽 **452**
cyclotheonamide **810**
cyclozonarone **263,712**
cymarose 加拿大麻糖 **499,681**
cymene 聚伞花素 **167**
cynarine 洋蓟酸 **658**
cynaropicrin **208**
cyperane 莎草烷 **198**
cypermethrin **190**
5β-cyprinol **718**
cyptoslemin **675**
cyrtophyllone **329**
cysteic acid 磺基丙氨酸 **699**
cysteine 半胱氨酸 **449**
cystine 胱氨酸 **449**

D

dacrysterone **275**
daidzein 大豆素 **532**,大豆黄素 **564**
daidzein-7,4′-diglucoside 大豆素-7,4′-二葡萄糖苷 **532**
daidzin 大豆苷 **532**
dammaradienol 达玛二烯醇 **421**
dammarane 达玛烷 **423**
danshen spirokell actone 丹参螺旋缩酮内酯 **330**
dansyl chloride 丹磺酰氯 **450**,二甲氨基萘磺酸氯 DNS-Cl **471**
daphnane 瑞香烷 **362**
daphnetin 瑞香内酯 **591**
daucane 胡萝卜烷 **198**
daunorubicin 道诺红菌素,柔红霉素 **577**
10-deacetyl-baccatin Ⅲ 10-去乙酰白卡亭Ⅲ **307**
7-deacetyl forskolin 7-去乙酰鞘蕊花素 **342**
deacetyllanatoside C 西地兰 **681**
debilic acid 青木香酸 **669**
decanoylacetaldehyde 鱼腥草素,癸酰乙醛 **1**
dehydrocholic acid 去氢胆酸 **773**
dehydrojuvabione 去氢保幼酮 **289**
1-dehydroxy-baccatin Ⅳ 1-去羟基-巴苦亭-Ⅳ **319**
delphinidin 飞燕草素 **533**
demethoxycadensin G **645**
demethyl coclaurine 和乌胺,去甲乌药碱 **119**
4-demethyliridoidglycoside 4-去甲基环烯醚萜苷 **186**
B-demethylisodysiderin **830**
demethylwedelolactone 去甲蟛蜞菊内酯 **594**
12-deoxy-16-hydroxyphorbol 12-去氧-16-羟基大戟二萜醇 **362**
deoxycubebin 荜澄茄素 **631**
deoxyphorbol 去氧大戟二萜醇 **362**
deoxyschizandrin 去氧五味子素 **636**
deoxyspongiaquinone **263**
deoxyviperidone **276**
D-1-deoxyxylulose-5-phospate **835**
depsipeptide 缩酚肽 **806**
dermorphin 皮啡肽 **448**
20-desacylresiniferatoxin 20-去酰基树脂大戟毒素 **366**
deserpidine 底宿吡丁 **154**

deslanoside 去乙酰毛花苷 1
desosamine 红霉脱氧糖胺 770
detected heteronuclear multiple-band coherence 探测异核多级键连接谱,HMBC 240
deutzioside 溲疏苷 186
dexamethasone 地塞米松 773
D-homo-5α-androstane-3-one D-高-5α-雄甾烷-3-酮 804
5(R), 16(S)-diacetoxy spata-13, 17-diene 713
diallyldisulfideoxide 二烯丙基硫代亚磺酸酯 697
diallyltrisulfide 二烯丙基三硫 698
2,6-diaminopimelic acid 2,6-二氨基庚二酸 448
diangeloylester 634
diasesartenin 632
dibalanocarpol 676
dibenzocyclooctene 联苯环辛烯 636
dibenzofuran 二苯呋喃 667
dibenzylbutane 二芳基丁烷 617
dibenzylbutanediol 二芳基丁二醇 617
dibenzylbutyrolactone 芳基丁内酯 620
dichroine 常山碱 132,760
dictamnine 白鲜碱 127
dictyoepoxide 713
dictyotene 838
16,17-didehydrostemofoline 16,17-二去氢百部叶碱 150
diffractaic acid 地弗地衣酸 655
digallic acid 双没食子酸 654
digicitrin 洋地黄黄酮 557
digiferrol 585
digiferruginol 585
diginose 地芰糖 684
digitalose 洋地黄糖 499
digitolutein 585
digitoxigenin 洋地黄毒苷元 681
digitoxine 洋地黄毒苷 773
digitoxose 洋地黄毒糖 499,681
digoxigenin 异羟基洋地黄毒苷元 681
digoxine 地高辛 681,773
dihydroardenone 727
dihydroartemisinin 二氢青蒿素 755
dihydroascaridol 二氢驱蛔素 257
dihydrocinchonine 二氢辛可宁 127
dihydrocortisone 氢化可的松 773
dihydrocyclopyrethrosin 二氢环除虫菊精 216
dihydrofoliamenthin 二氢睡菜苷 189
dihydrogeodin 655
dihydroisousnic acid 二氢异松萝酸 669
dihydromicrocephalin 216
dihydronepetalactone 二氢假荆芥内酯 185
dihydroparthanolide 217
dihydrosecurinine 二氢一叶萩碱 136
dihydrosesartemin 655
dihydrosinomenine 二氢防己碱 124
dihydrotamanlipin A 213
dihydrousnic acid 二氢松萝酸 669
1,3-dihydroxy-2-carboethoxy-9,10-anthraquinone 1,3-二羟基-2-乙氧羰基-9,10-蒽醌 583
17,24-dihydroxyhopan-28,22-olide 427
diketopiperazine 二酮哌嗪 835
dilbenzoylsinomenol 二苯甲酰基防己醇 124
dilkamural 713
dilopholide 713
dimedon 二甲酮 141
dimethyldisulfide 二甲基二硫醚 187
dimethylallyldiphosphate 二甲基烯丙基二磷酸酯,DMAPP 169
9-[(dimethylamino)methyl]-10-hydroxycamptothecin 9-二甲胺甲基-10羟基-喜树碱 763
4-N,N-dimethylaminoazobenzene-4′-isothiocyanate 4-N,N-二甲胺基偶氮苯-4′-异硫氰酸酯,DABITC 471
1-α-dimethylbenzyl-7-hydroxyl-β-carboline 1-邻二甲苄基-7-羟基-β-咔啉 155
3-dimethylsulfoniopropionate 3-二甲基硫代丙酸 833
2,4-dinitrofluorobenzene 2,4-二硝基氟苯,DNFB 452
dinophysistoxin 鳍藻毒素 DTX 831
dioscin 薯蓣皂苷 418
diosgenin 薯蓣皂苷元 439
diosgenin-diglucoside 薯蓣皂苷元双葡萄糖苷 441
diosphenol 布枯脑 177
diospyrol 柿酚 654
diphenylphosphorylazide 二苯磷酰叠氮,DPPA 806
diphyllin 山荷叶素 627
diplazioside Ⅵ 427
diploicin 双球标氏衣素 656
dipuupehedione 265
dirthromycin 地红霉素 772
disiamylborane 297
disparulure 295
disturtionless enhancement by polarization transfer 无畸变的核极化转移技术,DEPT 237
divaricoside 羊角拗苷 692
divastroside 异羊角拗苷 692
divinyl cycloalkan-1-ol 219
divinyl cyclopropane 838
dolantine 杜朗丁 116
dolastatin 722
dolichodial 道蚁二醛 185
domoic acid 硅藻酸 834
donepezil 多奈派齐 758

double quantachydroxycrence transfer 双量子相干转移 **61**
double quantafilter 双量子滤波 **61**
double quantum filter correlated spectroscopy DQF-COSY **507**
doxorubicin 多柔比星 **577**
drimane **197**
drimentine **265**
droplet counter-current chromatography 液滴逆流色谱 DCCC **20**
dryofragin **265**
ducitol 卫矛醇 **499**
dulcoside 杜尔可苷 **356**
dumortane **198**
duprezianane **199**

E

ecdysone 脱皮酮,蜕皮素 **272**
ecdysonoic acid 蜕皮酸 **284**
ecdysterone 蜕皮甾醇 **273**
echinenone 海胆酮 **826**
echinoclathrine **726**
echinoside **734**
ecteinasidins **712**
ectocarpene **838**
effusin **361**
eicosapentaenoic acid 二十碳五烯酸 **824**
eicosenoic acid 二十碳烯酸 **838**
electron (impact) ionization 电子轰击,EI **507**
electron capture detector 电子俘获检测器,ECD **384**
electron impact mass spectra 电子轰击质谱,EI MS **100**
electrospray ionization 电喷雾电离,ESI **102,507**
elemane 榄香烷 **219**
elemanolide 榄烷内酯 **200**
elemene 榄香烯 **2**
elenolide 洋橄榄内酯 **189**
elephantin **216**
elephantol **216**
elephantopin **216**
ellagic acid 鞣花酸 **654**
emetine 吐根碱 **120**
emmotin A **653**
emmotin D **653**
emodin 大黄素 **575**
emulsin 苦杏仁酶 **414,701**
enmein 延命草素 **352**
enolether 烯醇醚 **830**
enterocin **834**
ephedrine 麻黄碱 **1**
epi-3-hydroxycacalolide **207**
epiallo-lithocholic acid 表别石胆酸 **686**
epiarteincultone **258**
3-epi-austrobailignan-7 **628**
10-epi-axoisonitride **202**
epicatechin 表儿茶素 **533**
epicinchonidine 表辛可尼定 **127**
epicinchonine 表辛可宁 **127**
4-epi-cubebol **713**
epicyasterone **276**
14-epi-estrone 14-表雌激素酮 **804**
10-epi-eupatoroxin 10-表-泽兰氧化苦内酯 **210**
epigallo catechin gallate 没食子酰表没食子儿茶素,EGCG **1**
epimagnolin A **633**
epimeridinol **622**
epinodosinol **360**
epipodophyllotoxin 表鬼臼毒素 **624**
epiquinidine 表奎尼定 **127**
epiquinine 表奎宁 **127**
14-epitriptolide 14-表雷公藤内酯醇 **326**
epi-tulipinolide **216**
epolone **263**
17,18-epoxy-5(R), 16-dihydroxyspata-13 (14)-ene **713**
16,17-epoxyshikokianalacetate **360**
equisetrin 问荆苷 **531**
eremanthine **206**
eremophilane 雅槛蓝烷 **198**
eremophilanolide **200**
ergometrine 麦角新碱 **1**
erythoglaucin 毛罂红 **795**
erythromycin 红霉素 **770**
erythromycylamine 红霉胺 **772**
erythronolide 红霉内酯 **770**
escin 七叶素,七叶皂苷 **412**
esculentoside A 商陆皂苷甲 **419**
esculetin 七叶内酯 **590**
7-ethyl-10-(4-piperidino)-1-piperidino-carbonyloxy-camptothecin 7-乙基-10-(4-哌啶基)-1-哌啶基羰氧喜树碱 **764**
ethylcarbonate 碳酸乙酯 **770**
eudalene 优达烯 **214**
eudesmane 桉叶烷 **198**
eudesmanolide 桉叶内酯 **200**
eudesmone 桉叶酮 **259**
eugenol 丁香酚 **167**
eugentiogenin 优龙胆苦苷元 **189**
eupachlorin 泽兰氯内酯 **210**
eupachlorinacetate 乙酰泽兰氯内酯 **210**
eupachloroxin 泽兰氧化氯内酯 **210**
eupaformonin **214**
euparotin 泽兰苦内酯 **210**
euparotinacetate 乙酰泽兰苦内酯 **210**

eupassopilin **222**
eupatoroxin 泽兰氧化苦内酯 **210**
eupatundin 圆叶泽兰苦内酯 **210**
euphohelionone **367**
euphohelioscopin A **367**
euphohelioscopin B **367**
euphol 大戟醇 **421**
eupholelin **369**
euphoreppinol 阿勒颇侧大戟醇 **362**
euphorhylonal A **369**
euphorianin **368**
euphorin 苯基氨基甲酸乙酯 **368**
euphoscopin **369**
eupodipnone **645**
eupomatilone **645**
eusiderin A **641**
evaporative light scattering detector 蒸发光散射检测器,ELSD **384**
evernic acid 扁枝衣酸 **655**
exciton 激子 **111**
exciton chirality method 激子手性法 **111**
exciton coupling 激子偶合 **111**
exo-anomeric effect 外-异头碳效应 **496**

F

farnesane 茴香烷 **196**
E-β-farnesene *E*-β-没药烯 **204**
farnesol 金合欢醇 **192**
farnesyl 法呢基 **596**
farnesyl diphosphate 茴香烯二磷酸酯,FPP **196**
farnesyl pyrophosphate 法呢基焦磷酸酯,FPP **196**
fast atom bombardment 快原子轰击电离,FAB **102**
febrifugine 常山碱 **132**
fenchane 葑烷 **169**
fenchol 茴香醇 **182**
fenchone 茴香酮 **182**
ferintic acid A **834**
ferulic acid 阿魏酸 **613,677**
ficine 榕碱 **527**
field desorption 场解析,FD **507**
field ionization 场致电离,FI **507**
filicinic acid 绵马精酸 **665**
filiforminol **202**
filixic acid 绵马根酸 **665**
finavarrene **838**
fingerprint spectrum 指纹图谱 **541**
flame ionization detector 火焰离子化检测器,FID **384**
flavanone 双氢黄酮 **527**
flavanonol 双氢黄酮醇 **527**
flavaspidic acid 黄绵马酸 **665**
flavin 黄素 **832**
flavogallol 黄棓醇 **654**
flavone 黄酮 **527**
flavonol 黄酮醇 **527**
flavopiridol **562**
fluorescamine 荧光胺 **453**
flurithromycin 氟红霉素 **772**
fluvirucin B_1 **801**
foliamenthin 睡菜苷 **189**
4α-formamidogorgon-11-ene **266**
formononetin 芒柄花素 **559,792**
formosalactone **626**
formosanol **626**
forskolin 鞘蕊花素 **334**
frondosin **206**
frontalin **293**
fructan 果聚糖 **497**
frutinone A **594**
fucoserratene **839**
fucosterol 岩藻甾醇 **284**
fumagillin 烟曲霉素 **204**
fumagillol **206**
furanocaienone **213**
furoguaiacin **628**
furospirostane 呋喃螺旋甾烷 **444**
futoenone 尖胡椒酯酮 **644,652**
futoquinol 细叶青蒌藤醌醇 **652**

G

gadain **621,655**
galactitol 半乳糖醇 **499**
galactose 半乳糖 **492**
galangin 高良姜素 **531**
galcatin **630**
ganoderic acid C 灵芝酸 C **422**
gardenin 栀子黄素 **1**
gas chromatography 气相层析 **8**
gene library 基因文库 **568**
genestein 染料木黄酮 **2**
geniopicroside 龙胆苦苷 **189**
genipin 京尼平 **185**
genipin-1-*O*-gentiobioside 京平尼-1-氧-龙胆双糖 **186**
geniposide 京尼平苷 **186**
genistein 染料木素,金雀异黄素 **563**
genkwanin 芫花素 **530**
genomic library 基因组文库 **568**
gentianine 龙胆碱 **184**
gentiobiose 龙胆双糖 **701**

gentiogenin 龙胆苦苷元 **189**
gentiopicrin 龙胆苦苷 **189**
geodiamolide **728**
geranyl 牻牛儿基 **596**
geranyldiphosphate 牻牛儿基二磷酸酯 GPP **169**
geranylgeranylpyrophosphate 香叶基-香叶基焦磷酸 GGPP **826**
gerenylgerenyldiphosphate 牻牛儿基牻牛儿醇焦磷酸酯 **310**
germacradiene 牻牛儿二烯 **219**
5*S*,8*S*-germacran-1*E*,6*E*-dion-5-ol 5*S*,8*S*-牻牛儿烷-1*E*,6*E*-二烯-5-醇 **240**
germacrane 牻牛儿烷 **197**
germacranolide 牻牛儿内酯 **200**
germacrene 大根香叶烯 **219**
germacrolide **213**
gibberellane 赤霉烷 **305**
giffordene **838**
gingerol 姜酚 **652**
ginkgetin 银杏黄素 **528**
ginkgoic acid 银杏酸 **651**
ginkgolide 银杏内酯 **378**
ginsenoside Rb_1 人参皂苷 Rb_1 **423**
ginsenoside Rb_2 人参皂苷 Rb_2 **414**
gitoxigenin 羟基洋地黄毒苷元 **681**
gleditsioside A **431**
glepidoin C **676**
globulol 蓝桉醇 **240**
glucan 葡聚糖 **497**
glucobrassicin 芸苔苷 **700**
glucoconvallasaponin B 铃兰葡萄糖苷 B **441**
glucoraphenin 萝卜苷 **700**
glutamic acid 谷氨酸 **449,619,826**
glutamine 谷酰胺 **449**
γ-glutamyl-Se-methyl-seleno cystein γ-谷氨酰基-硒-甲基硒半胱氨酸,GGMSC **698**
glyceraldehyde 甘油醛 **490**
glyceraldehyde-3-phosphate 磷酸甘油醛 **836**
glycerol 甘油 **830**
glycine 甘氨酸 **449**
glycinylilimaquinone **267**
glycitein 黄豆黄素 **564**
glycolate 甘醇酸酯 **831**
glycyrrhetinic acid 甘草次酸 **425**
glycyrrhizic acid 甘草酸 **425**
glycyrrhizin 甘草甜素 **2**
gnetuhaiin M **675**
gomisin 高米辛 **636,798**
gonadotropin releasing hormone 促性腺激素释放激素,GnRH **463**
gongauline **832**
gonodomin A **832**
gorgonane **198**
gossypol 棉酚 **654**
gracillin 纤细皂苷 **441**
gramicidine 短杆菌肽 **448**
grandisol 小蠹二烯醇 **295**
grifolin 奇果菌素 **652**
guaiane 愈创木烷 **198**
guaianolide 愈创木内酯 **200**
guaiazulene 愈疮木蒽 **261**
guamarol **620**
guamarolin **620**
guayadequiol **622**
guidongnin 贵州冬凌草素 **353**
gymnomitrane **200**

H

haemocorinin **673**
haliclonacyclamine A **835**
haliclonacyclamine B **835**
halisulfate **727**
hamamelose 金缕梅糖 **498**
hancinone 山姜素 **638**
hanfangehin B 汉防己乙素 **7**
haplosmates **717**
harmaline 骆驼蓬碱 **152**
harmine 去氢骆驼蓬碱 **152**
harpagide 哈帕苷 **188**
harpagoside 玄参苷 **188**
haterumalides **729**
hazalcanin A **619**
α hederin α-常春藤皂苷 **420**
helenalin 堆心菊灵 **205**
heliangin **214**
heliangolide **213**
hellebrigenin 嚏根草苷元 **695**
helminthosporane 长蠕孢烷 **199**
hemibrevetoxin **830**
hepialone, 蝠蛾酮 **294**
heratonol 6-羟基白芷内酯 **592**
herbadysidolide **835**
herbatane **197**
herifoline 黄甲次苷乙 **695**
herniarin 7-甲氧基香豆素 **590**
hesperidin 橙皮苷 **551**
heteroclitin **636**
heteronuclear multiple-quantum coherence 异核多级量子相干谱,HMQC **64,240,507**

heteronuclear multiple-band coherence 异核多键相干谱,HMBC **64,240,507**
heterotropan **654**
hexa-albaspidin 六聚白绵马素 **666**
hexa-flavaspidic acid 六聚黄绵马酸 **666**
hexamethyl phosphoramide 六甲基磷酰胺,HMPA **296**
hiascininic acid **654**
higenamine 去甲乌药碱 **119**
high-performance liquid chromatography 高效液相色谱法,HPLC **537**
high speed counter current chromatography 高速逆流色谱,HSCCC **21,536**
himachalane 雪松烷 **198**
hinokiflavone 扁柏双黄酮 **528**
hirsutane **199**
hispidospermidin **267**
histidine 组氨酸 **449**
holostane 海参烷 **734**
holothurin A 海参素 A **734**
homoanatoxin-a **829**
homoplantaginin 高车前苷 **530**
homosesquiterpene **204**
homoterpenes 高萜类 **295**
hongoquercin **264**
honokiol 和厚朴酚 **641,652**
hopane 何伯烷 **426**
hopeaphenol 香坡垒酚 **652**
hormone 激素 **271**
hormosirene **838**
humulane 葎草烷 **197**
humulone 葎草酮,蛇麻酮 **666**
huperzine A 石杉碱甲 **160,658**
huperzine B 石杉碱乙 **160**
hyatellaquinone **264**
hydrangeaic acid **655**
hydranngetin **591**
hydrochinidine 氢化奎尼定 **127**
hydrochinine 氢化奎宁 **127**
hydrocinchonidine 二氢辛可尼定 **127**
hydroprednisone 氢化泼尼松 **773**
hydroquinidine 二氢奎尼定 **127**
hydroquinine 二氢奎宁 **127**
hydroxy methylacylfulvene **204**
3′, 9, 9′-hydroxy-3-methoxy-4′, 7-epoxy-neolignane-4-O-β-D-glucopyranoside **637**
2′-hydroxyasarinin 2′-羟基细辛素 **633**
3-hydroxycacalolide **207**
3-hydroxy-5-carboxyl benzoic acid 3-羟基-5-羧基苯甲酸 **155**
7-hydroxydihydrosesamin 7-羟基二氢芝麻脂素 **628**
20-hydroxyecdysone 20-羟基蜕皮素 **286**
hydroxygaleon **657**
3-hydroxyglutamic acid 3-羟基谷氨酸 **834**
hydroxyisoquinoline 羟基异喹啉 **130**
hydroxymethylacylfulvene **204**
hydroxypachybusin **585**
16-hydroxyphorbol 16-羟基大戟二萜醇 **362**
hydroxyproline 羟脯氨酸 **449**
hydroxyresveratrol 羟基白藜芦醇 **665**
6-hydroxy-rubiadin 6-羟基茜根定 **583**
5-hydroxyseselin 5-羟基邻蒿内酯 **592**
16 hydroxytriptolide 16-羟基雷公藤内酯醇 **323**
hygrine 古豆碱 **135**
hyoscine 东莨菪碱 **138**
hyoscyamine 莨菪碱 **138**
hyperin 金丝桃苷 **562**

I

ibhayinol **202**
icariside 大花淫羊藿次苷,淫羊藿次苷 **563**
iegenol-20-palmitate **364**
illudalane **199**
illudane 伊鲁烷 **199**
illudin 隐杯伞素 **204**
imperatorin 欧前胡内酯 **591**
indirubin 靛玉红 **768**
indolizidine 吲哚里西定 **136**
inflacoumarin A 胀果香豆素甲 **593**
ingenane 巨大戟烷 **362**
ingenol 巨大戟醇 **364**
inokosterone 牛膝甾酮 **273**
inositol 肌醇 **499**
insect hormone 昆虫激素 **270**
in situ anomerisation 原位异头位异构 **515**
insulicolide **264**
integric acid **207**
integristerone **278**
intensitive nuclei enhanced by polarization transfer 非灵敏核极化转移技术,INEPT **237**
intercendenside A **740**
interiorin **637**
interruptin G **608**
ion exchange chromography 离子交换层析,IEC **454**
ionone 紫香酮 **826**
ipalbidine 白牵牛碱 **136**
iphionane **198**
ipsdienol 小蠹二烯醇 **295**
ipsenol 小蠹烯醇 **295**
iridane 虹彩烷 **169**

iridodial 虹彩二醛 185
iridoid 环烯醚萜 169
iridomyrmecin 蚁素,伊蚁内酯 185
irinotecan 伊诺替康 764
ishwarane 印马烷 200
isoacanthodorane 197
isoajmaline 异阿马林 154
isoalantolactone 异土木香内酯 214
isoamericanol A 641
isobaccharin 异巴卡林 205
isobaccharinol 异巴卡林醇 205
isobelin 213
isobergapten 异香柑内酯 592
isoborneol 异龙脑 181
isocamphane 异樟烷 169
isocedrane 异雪松烷 200
isocuparane 异花侧柏烷 197
4α-isocyanogorgon-11-ene 266
9-isocyano-neopupukeanane 202
isocyanotheonelliin 202
isocyanotrachyopsane 202
isocyasterone 278
isodaucane 异胡罗卜烷 198
isodemethylwedelolactone 异去甲蟛蜞菊内酯 594
isodihydronepetalactone 异二氢假荆芥内酯 185
isodocarpin 361
isodonal 361
isodotricin 360
isofebrigugine 异常山碱 133
isoficine 异榕碱 527
isofucosterol 异岩藻甾醇 284
isogeraniol 异牻牛儿醇 171
isoginkgetin 异银杏黄素 528
isogmelinol 635
isoguaiacin 630
isoguamarol 620
isohopane 异何伯烷 426
isohyperin 异金丝桃苷 531
isoimperatorin 异欧前胡内酯 591
isoiridomyrmecin 异伊蚁内酯 185
isokaerophyllin 620
isokotanin A 608
isolariciresinol 异落叶松树脂醇 627
isolaurane 异月桂烷 197
isolaureatin 843
isoleucine 异亮氨酸 449
isoliquiritin 异甘草苷 539
isolongifolane 异长松叶烷 200
isomagnolone 644
isomangiferin 异芒果苷 534
isomenthone 异薄荷酮 177
isomethoxylstemofoline 异甲氧代百部叶碱 150
isonahocols 714
isonakafurane 200
isonardoperoxide 260
isononin 异芒柄花苷 539
isopelletierine 异石榴碱 118
isopentenyldiphosphate 异戊烯基二磷酸酯,IPP 169,826
isopentenylpyrophosphate 异戊烯焦磷酸 834
isopetasin 异蜂斗菜素 207
isopimpinellin 异茴芹内酯 591
isopolyalthenol 265
isoprotostemonine 异原百部碱 149
isopsoralen 异补骨脂内酯,白芷内酯 592
isopulegone 异胡薄荷酮 591
isoquercetrin 异槲皮苷 563
isoquinoline 异喹啉 119
isoreserpine 异利血平 154
isoraunescine 异萝尼生 154
isosalvianolic acid 异丹酚酸 C 677
isosarmentosin 异垂盆草苷 702
isostemofoline 异百部叶碱 150
isostemonamine 异曼生百部碱 144
isostemotinine 异滇百部碱 143
isotanshinone Ⅰ 异丹参酮Ⅰ 330
isotanshinone Ⅱ_A 异丹参酮Ⅱ_A 330
isotetratalin 626
isovaleryloxy 异戊酰氧基 593
isovitexin 异牡荆苷 552
italicane 199

J

japonenyne 202
jaschkeanadiol 230
jasminoidin 栀子苷 186
jasmolin 190
jaspamide 728
jatrophane 假白榄烷 369,621
jinggangmycin 井冈霉素 92
joalin 713
jolkinol 367
jolkinolide A 岩大戟内酯 A 328
jolkinolide B 岩大戟内酯 B 328
juncumone 灯心草酮 655
juncunol 673
juncunone 673
juncusol 673
justicidinolide 626

justicin 爵床素 **647**
juvabione 保幼酮 **204,288**
juvenile hormone 保幼激素,JH **288**

K

kabiramide **830**
kadsulignan **636**
kadsurenone 海风藤酮 **638**
kadsurin **636,797**
kaempferol-3-*O*-(4″-caffeoyl) laminaribioside-7-*O*-rhamnoside 山柰酚-3-*O*-(4″-咖啡酰)昆布双糖-7-*O*-鼠李糖苷 **552**
kaempferol 山柰酚 **562**
kainic acid 海人草酸 **455,712,834**
kairomone 利他素 **271**
kaladasterone **278**
kamebakaurin 鄂西香茶菜甲素 **359**
kamebanin **357**
kampanol **264**
kansuinine A 甘遂萜酯 A **368**
kaurane 贝壳杉烷 **305**
kaurene 贝壳杉烯 **351**
kelsoane **199**
keramamide **728**
kesibufogenin 脂蟾毒苷元 **695**
ketoglutamic acid 氧代谷氨酸 **460**
ketoglutarate 酮戊二酸 **832**
ketose 酮糖 **490**
khellactone 凯林内酯 **589**
khellin 凯林 **534**
khusiane **200**
kingiside 金吉苷 **189**
kinokitol **656**
kobophenol **675**
koshikamide A **728**
kosine 苦苏素 **658**
kumausallene **202**
kushenol C 苦参醇 C **527**

L

labdane 半日花烷 **305**
lachnanthoside **654**
lactarane **198**
lactiflorin 芍药新苷 **180**
lactrile 苦杏仁苷 **701**
lactucasterol **716**
ladaniferane **199**
lamellicolic anhydride **654**
lampterol **204**
lanatoside C 毛花洋地黄毒苷丙 **690**
lanostane 羊毛甾烷 **422**
lanosterol 羊毛脂醇 **421**
lariciresinol 落叶松树脂醇 **613**
larprapic acid **651**
laserpiline **214**
lathyrane 续随子烷 **362**
lathyrol 续随子二萜醇 **367**
laudabosine **122**
laudanidine 劳丹宁 **122**
laurallene **843**
laurane 月桂烷 **197**
laureatin **843**
laurediol **842**
laurencial **202**
laurencienyne B **202**
laurencin **202**
laurenobiolide **214**
leucine 亮氨酸 **449,826**
leucoanthocyanidin 无色花色素 **534**
leucocyanidin 无色矢车菊素 **534**
leucodelphinidin 无色翠雀定,无色飞燕草素 **534**
leucopelargonidin 无色天竺葵素 **534**
leukotriene 白三烯 **677**
leurosidine 异长春碱,柳诺西亭 **157**
leurosine 环氧长春碱,柳诺新 **157**
leuteinizing hormoner eleasing hormone 促黄体激素释放激素,LH-RH **464**
lichenoide 地衣酚类 **651**
licochalcone 甘草查尔酮 **556**
licoflavone 甘草黄酮 **563**
liensinine 莲心碱 **119**
lignanolide 木脂体内酯 **620**
lignin 木质素 **677**
limettin 白柠檬素 **590**
limonene 柠檬烯 **177,292**
linalool 芳樟醇 **173**
lindenane 乌药烷 **199**
linderalactone 钩樟内酯,山胡椒内酯 **213**
linderone 钩樟酮,乌药酮 **651**
R-linoleate *R*-亚油酸酯 **841**
linolenic acid 亚麻酸 **840**
liouvillosidea **740**
lipoferolide **259**
lipopolysaccharide 脂多糖 **503**
lipoxin A 酯氧素 A **777**
lipoxygenase 脂氧化酶 **838**
liquid chromatography 液相色谱 **8**
liquiritigenin 甘草素 **549**
liquiritigenin-7,4′-diglucoside 甘草素-7,4′-二葡萄糖苷 **539**

liquiritin 甘草苷 **539**
lithospermic acid 紫草酸 **677**
lobaric acid 兜衣酸 **655**
loganin 马钱素 **186**
lomatin **645**
longiborane **200**
longicyclane **200**
longifolane 长叶烷 **200**
longikaurin C 360
longipinane 长叶松烷 **200**
longshengensin A 南岭前胡 A **593**
loniceraflavone 忍冬素 **530**
lonicerin 忍冬苷 **530**
loniceroside 忍冬苦苷 **189**
lucidenic acid A 赤芝酸 A **422**
lucidin-1-methylether-11-*O*-β-glucoside 光泽汀-1-甲醚-11-*O*-β-葡萄糖苷 **582**
lucidin-3-*O*-β-glucoside 光泽汀-3-*O*-β-葡萄糖苷 **582**
lucidin-3-*O*-β-primeveroside 光泽汀-3-*O*-β-樱草糖苷 **582**
lucidone A 赤芝酮 A **422**
ludongnin A 卢氏冬凌草甲素 **353**
ludongnin B 卢氏冬凌草乙素 **353**
lunularic acid 半月苔酸 **676**
lupane 羽扇豆烷 **426**
lupeol 羽扇豆醇 **421,582**
lupulone **666**
lushanrubescensin A 鲁山冬凌草甲素 **351**
lushanrubescensin B 鲁山冬凌草乙素 **351**
luteolin 木犀草素 **530**
luvangetin 藤桔亭,鲁望桔内酯 **592**
lycopenamia 番红素血 **707**
lycopene 番茄红素 **707**
lycopodine 石松碱 **834**
lysine 赖氨酸 **467**

M

maackiain 山槐素 **532**
maaliane 橄榄烷 **199**
machilin **646**
machilusol E **640**
macrocyclicdeterpene 大环二萜 **361**
macrolactin A **802**
macronecine 大叶千里光次碱 **135**
macrophylline 大叶千里光碱 **135**
macroporous adsorption resin 大孔吸附树脂 **17**
macroporous adsorption resin chromatography 大孔吸附树脂柱层析,MARC **536**
maculatin **215**
madecassoside 羟基积雪草苷 **23,412**
madeirin **585**
madolane **197**
magaphone **654**
magnoflorine 木兰花碱 **120,670**
magnoliadiel **626**
magnolianin **643**
magnonol 厚朴酚 **641,651**
mahuannin A 麻黄灵 A **533**
mahuannin B 麻黄灵 B **533**
maistemonine 狭叶百部碱 **143**
makisterone **278**
5β-malanol **718**
malibatol **677**
maltase 麦芽糖酶 **414**
malvidin 锦葵素 **533**
mandarone **329**
mandelonitrile 扁桃腈,杏仁腈 **701**
mannan 甘露聚糖 **497**
mannitol 甘露糖醇 **499**
mapepl **826**
marasmane **199**
marchantin A **676**
margaspidin **664**
massarinolane **198**
masssetolide **822**
matairesinol 乌台树脂酚,罗汉松脂素 **620**
matairesinoside 罗汉松脂苷 **620**
matrix-assisted laser desorption ionization 基质辅助激光解吸电离,MALDI **103,507**
matteucinol 紫花杜鹃甲素 **530**
maytansine 美登素 **783**
mebadonin **360**
mefloquine 甲氟喹 **249**
megestrol 甲地孕酮 **773**
melampolide **213**
melasequirin A **655**
melasequirin B **655**
meliacane 苦楝素 **424**
menthane 薄荷烷 **169**
menthofuran 薄荷呋喃 **177**
menthol 薄荷醇 **175,786**
menthone 薄荷酮 **177**
meratin 腊梅苷 **531**
meridinol **622**
meroquinene 部奎宁 **128**
meroterpenoid 含萜化合物 **712**
mesogentiogenin 中龙胆苷元 **189**
meso-nordihydro guaiaretic acid **619**
metabolicaccidents 代谢偶然产物 **820**

metamorphosishormone 变态激素 **270**
methionine 甲硫氨酸,蛋氨酸 **449,826**
methopterosin **711**
3-methoxy-2-methylanthraquinone **585**
12α-methoxylparvistemonine 12α-甲氧基细花百部碱 **146**
methoxylstemofoline 甲氧代百部叶碱 **150**
4′-methoxypiceid **677**
5-methoxyseselin 5-甲氧基邪蒿内酯 **592**
4-methylacruginoic acid **449**
4-methylaminoavarone **266**
(2*R*,3*S*) 3 methylaspartic acid (2*R*,3*S*)-3-甲基天冬氨酸 MASP **826**
1-α-methylbenzyl-7-hydroxyl β-carboline 1-邻甲基苄基-7-羟基-β-咔啉 **155**
2-methylbutyryloxy 2-甲基丁酰氧基 **593**
methylchasnaroline **620**
7-methylcycloocta-1, 3, 5-triene **840**
3-methyl-cyclopentadecanone 3-甲基环十五烷酮 **705**
methylene-bis-norflavaspidic acid B **665**
(*R*, *Z*)-14-methylhexadec-8-enol (*R*, *Z*)-14-甲基十六烯-8-醇 **295**
3-methyl-α-himachalane **204**
methylisopelletierine 甲基异石榴碱 **118**
methylpentandioic acid 甲基戊二酸 **438**
methylpipertol **635**
4-*O*-methylpyridoxine MPN **408**
2-methyltaurine 2-甲基牛磺酸 **699**
methyltestesterone 甲基睾丸酮 **773**
4-methylthio-2-hydroxy butyric acid 4-甲硫基-2-羟基丁酸 **837**
4-methylthio-2-oxobutyric acid 4-甲硫基-2-氧丁酸 **837**
mevalonate 甲羟戊酸 **830**
mevalonic acid 甲瓦龙酸 **169,822**
microcystin 微囊藻毒素 **812,826**
microlenin **205**
microwave extraction 微波萃取,ME **538**
milledurone 鸡血藤异黄酮 **560**
milliamine **364**
misakinolide **830**
miyabenol C **677**
modhephane **199**
moiramide **822**
molecular distillation 分子蒸馏,MD **536**
molecular ion peak 分子离子峰 **102**
mommorchrin **77**
monensin 金叶树苷,莫能菌素 **824**
monoclonal antibodies 单克隆抗体 **820**
monocrotaline 农吉利碱,野百合碱 **135**
monocyclofarnesane **196**
monolignol **677**
monoterpene 单萜 **166**
mordosinane **198**
morin 桑色素 **563**
morphine 吗啡 **119,778**
morpholine 吗啉 **465**
morroniside 莫诺苷 **189**
motuporin **812,826**
mukanadins **726**
multifidene **838**
munjistin-1-methylether 门衣司亭-1-甲醚 **582**
murralongin **602**
muristerone A **279**
muscone 麝香酮 **705**
mussaendoside Q 山甘草皂苷 Q **434**
mutisianthane **198**
muzitone **727**
mycalolide **830**
mycestericins A **769**
myltaylane **200**
myrcene 月桂烯 **173**
myricanol 香杨梅醇 **657**
myricetin 杨梅素 **531**
myriocin 多球壳菌素 **769**
myrmekiosides **729**
myrsinol 曼西醇 **362**
myristicin **615**
myrtenol 桃金娘烯醇 **180**
myrtucommulon 香桃木酮 **653**

N

nahocols **714**
nakijiquinone **266**
α-naphthaphenanthridine α-萘菲啶 **120**
naphthylalanine 萘基丙氨酸 Nal **450**
narceine 那碎因 **121**
narcotine 那可汀 **119**
narcotoline 罂粟壳碱 **121**
nardoperoxide **260**
naringin 柚皮苷 **561**
N-carboxyanhydride *N*-羧基酸酐 NCA **452**
nebacetal A **360**
nematocides 杀线虫剂 **729**
neoanisatine 新莽草素 **232**
neoarctin B **643**
neoclovene 新丁子香烯 **220**
neodichroine 常山新碱 **133**
neoglucobrassicin 新芸苔苷 **700**
neohesperidoside 新橙皮苷 **530**

neoisoliquiritin 新异甘草苷 **539**
neolignan 新木脂体 **611**
neomatatabiol 新木天蓼醇 **185**
neopine 尼奥品 **121**
neopolyalthenol **265**
neosaxitoxin **826**
neostemonine **149**
neotriptetraolide 新雷公藤内酯四醇 **326**
neotuberostemonine 新对叶百部碱 **151**
nepetalactone 假荆芥内酯 **185**
neral 香橙醛 **171**
nerol 香橙醇 **173**
nerolidol 橙花叔醇 **258**
nerolidyldiphosphate 橙花烯二磷酸酯 NPP **196**
N-hydroxycantharidine 羟基斑蝥素 **768**
N-hydroxylcantharidimide 羟基斑蝥胺 **192**
nicotine 烟碱 **4**
ninhydrin 茚三酮 **452**
9-nitrocamptothecin 9-硝基喜树碱 **765**
1-nitropyrene 1-硝基芘 1-NP **587**
N-methyl desacethyl aspidospermine *N*-甲基去乙酰基白坚木碱 **158**
N-methylcantharidimide 甲基斑蝥胺 **192**
nobiletin 川陈皮素 **530**
nodularin **812**,**826**
(3*Z*,5*Z*,7*Z*)-nona-1, 3, 5, 7-tetraene **840**
nonholostane 非海参烷 **734**
noranisatine 失碳莽草素 **232**
noranisatinone 失碳莽草酮 **232**
norbraylin 去甲布拉易林 **592**
norcantharidine 去甲斑蝥素 **768**
29-norcyasterone **279**
nordihydroguaiaretic acid 去甲二氢愈创木脂酸 **617**
nordosinone **259**
nordumortane **200**
norethisterone 诺塞甾酮,炔诺酮 **773**
normaaliane **196**
nor-neo-clerodane **346**
norrubrofusarin 去甲红镰孢素 **534**
29-norsengosterone **279**
nortexpene cyclic peroxides **728**
norvaline 正颉氨酸 **822**
novobiocin 新生霉素 **594**
nuclear overhauser effect spectroscopy,NOESY **507**
nudenane **200**

O

20-*O*-acetylingenol-3-*O*-(2″*E*,4″*Z*)-decadienoate **364**
obtusenyne **202**
obtusin 纯菇菌素,纯叶决明素 **577**
ochnaflavone 梨木双黄酮 **559**
O-cinnamoyltaxicin-Ⅰ **308**
(3*E*, 5*Z*)-octa 1, 3, 5-triene **839**
octadecylsilane 十八烷基键合硅胶,ODS **411**
octant rule 八区律 **111**
ocubellenone **640**
offresonance 偏共振 **229**
2-*O*-glucosylsamaderine 苦木苦素糖苷 **425**
okadaic acid 大田软海绵酸 **831**
okadaic acid diolester 大田软海绵酸二醇酯 **831**
oleanane 齐墩果烷 **425**
oleandolide 夹竹桃内酯 **799**
oleandrigenin 夹竹桃苷元 **695**
oleandrose 齐墩果糖 **499**,夹竹桃糖 **681**
oleanolic acid 齐墩果酸 **421**
oleuropein 油橄榄苦苷 **189**
oligosaccharide 寡糖 **499**
oncogene 原癌基因 **729**
on rhyncolide **822**
onocerin 芒柄花醇 **421**
ophiopogenin B 麦门冬皂苷 B **442**
oplopanane **198**
oppositane **198**
oridonin 冬凌草甲素 **352**
oripavine 东罂粟碱 **121**
ornithine 鸟氨酸 **449**
orobanin 列当苦苷 **186**
orthoester benzoate 苯甲酸原酸酯 **366**
osladin **279**
3-*O*-tetradecanoylingenol **364**
4-oxalysine 4-氧代赖氨酸 **458**
oxetane 环氧丁烷 **306**
oxirane 环氧乙烷 **306**
π-oxocamphor π-氧化樟脑 **181**
oxonium ion 氧鎓离子 **604**
oxoparabenzlactone **623**
oxotuberostemonine 氧代对叶百部碱 **144**
oxylipin 氧代脂质体 **837**
oxypaeoniflorin 氧化芍药苷 **180**
oxystemofoline 氧代百部叶碱 **150**
oxytocin 催产素 **461**

P

pachioteneoxide **316**
pachymic acid 茯苓酸 **422**
paclitaxel 紫杉醇 **1**
paederoside 鸡矢藤苷 **186**
paederosidic acid 鸡矢藤苷酸 **186**

paeoniflorin 芍药苷 **180**
paeonol 丹皮酚 **4**
pallidol **677**
palmatic acid 棕榈酸 **703**
panasenoside 人参黄酮苷 **531**
papaveraldine 鸦片黄碱 **122**
papaverine 罂粟碱 **119,532**
papuamides **728**
parahigginic acid **728**
parahigginols **728**
parathyroidhormone 甲状旁腺激素 **102**
pardaliane **200**
paristerone **279**
parvistemoamide **149**
parvistemoline 细花百部酰胺 **145**
parvistemonine 细花百部碱 **143**
patchoulane 广藿香烷 **200**
pathanolide **207**
p-coumaric acid 对桂皮酸 **677**
p-coumaryl alchhydroxyol 对桂皮醇 **677**
p-cymene 对聚伞花素 **167**
pectin 果胶 **501**
pectolinarin 柳穿鱼苷 **530**
pelargonidin 天竺葵素 **533**
peltatin 盾叶鬼臼素 **615**
penaustroside A **734**
penicein B-3 **657**
penicillum **657**
pentaalbaspidin 五聚白绵马素 **666**
pentabromopseudiline **821**
pentafluorophenylester 五氟苯酯 **806**
pentalenane **199**
peperomin A **645**
periplanone-B **292**
periplocoside 杠柳苷 **694**
periplogenin 杠柳苷元 **693**
permethrin **190**
peroxy costunolide **260**
peroxy partbenolide **260**
perusitin 黄夹次苷丁 **695**
peruvoside 黄甲次苷甲 **695**
petasin 紫蜂斗菜素 **207**
peucephyllin **214**
phakellistatin **730**
phebalarin **617**
phellamurin 黄柏苷 **531**
phenyeglyoxylic acid 苯酰甲酸 **139**
phenylpropanoids 苯丙素类 **589**
3-phenyl-2-thihydroxyydantoin-amino acid PTH-氨基酸 **451**
phenylacetyl-CoA 苯乙酰辅酶 **826**
phenylalanine 苯丙氨酸 **449,590,677**
2-phenyl-chromone 2-苯基色原酮 **526**
phenyl ethanoid glycoside 苯乙素苷 **501**
phenylisothiocyanate 异硫氰酸苯酯,PITC **451**
phenylpropanoidglycoside 苯丙素苷 **501**
pheromone biosynthesis activating neuropeptide 生物合成神经肽,PBAN **293**
philinopside A **740**
phloroaspyron **665**
phloroglucinol **265**
phloropyran **665**
homalairdane **199**
phomarin **585**
phorbol 大戟二萜醇 **362**
phosphoenolpyruvate 磷酸烯醇丙酮酸 **821**
phospholipase A_2 抑制磷脂酶 A_2 **727**
phosphorotungstic acid 磷钨酸 **116**
phyllamyricin C **625**
phyllamyricolide B **625**
phyllanthin 叶下珠脂素 **617**
phyllofolactones **727**
physcion 大黄素甲醚 **576**
physcion-8-O-β D glucopyranoside 大黄素甲醚-8-O-β-D-吡喃葡萄糖苷 **579**
physostigmine 毒扁豆碱 **1**
phytoalexane **197**
phytoalexin 植物抗毒素 **676**
phytoecdysones 植物蜕皮素 **273**
phytol 叶绿醇 **836**
phytotoxin 植物毒素 **567**
piceatannol **676**
piceid **676**
picrolichenic acid **656**
picropodophyllotoxin 苦鬼臼毒素 **624**
picrotoxane 苦味毒烷 **200**
picrotoxin 苦味毒 **206**
pilocarpine 毛果芸香碱 **1**
pimarane 海松烷 **305**
pimarthrene 1,7-二甲基菲 **351**
pimelic acid 庚二酸 **140**
pimpinellin 茴芹内酯 **592**
pinacol-pinacolone 频哪醇-频哪酮 **597**
pinane 蒎烷 **169**
pinene 蒎烯 **180**
pinguisane **198**
pinnasterol **279**
pinocamphor 松樟酮 **180**
pinoresinol **613**

piperidine 哌啶 **136**
piperidine-3,4-dicarboxylic acid 哌啶3,4-二羧酸 **128**
piperitenone 薄荷二烯酮 **177**
piperitone 薄荷烯酮 **177**
piscidic acid **651**
placodiolic acid **667**
platelet activating factor 血小板活化因子,PAF **378**
platynecine 阔叶千里光次碱 **135**
platyphylline 阔叶千里光碱 **135**
podecdysone **278**
podocarpane 罗汉松烷 **305**
podophyllotoxin 鬼臼毒素 **613,762,795**
polyacrylamide 聚丙烯酰胺 **463**
polyamide 聚酰胺 **19**
polyathenol **265**
polyethyleneglycol 聚乙二醇,PEG **566**
polyfibrospongol **263**
polyketide 聚乙酰衍生物 **831**
polyphosphoric acid 多磷酸,PPA **607**
polypodine **280**
polypodoaurein **281**
polypodosaponin A **281**
polyporenic acid 猪苓酸 **422**
polyveoline **265**
ponasterone 百日青甾酮 **273,281**
ponasteroside A **281**
poncirin 枸桔苷 **561**
poncitrin 枸桔内酯 **592**
ponicidin 冬凌草乙素 **352**
porson **657**
position alisomer 区域异构体 **293**
post translationnal modification 翻译后修饰 **448**
poststerone **281**
potassium 3-aminopropylamide 3-氨基丙胺基钾,KAPA **297**
potassium hexacyanoferrate 氰化铁钾 **618**
potassium phthalimide 酞酰亚胺钾,K-NPht **459**
potassium quisqualate 使君子氨酸钾盐 **457**
povidone 聚维酮,PVP **566**
p-oxocamphor 对氧化樟脑 **181**
praemiximisterone **281**
praeruptorin C 白花前胡丙素 **609**
precapnellane **198**
precursor 前体 **828**
precyasterone **281**
pregomisin 前戈米辛 **647**
prelaureatin **843**
presiccanochromene A-5 **657**
presilphiperfolane **199**
prespalane **199**
prezizaane **198**
procaine 普鲁卡因 **116**
prococene 早熟烯 **290**
progesterone **803**
proline 脯氨酸 **449**
prop-1-enyl sulfenic acid 丙烯基次磺酸 **699**
propenylphenol 丙烯基酚 **611**
pro-resiniferatoxin 原树脂大戟毒素 **366**
prostratin **363**
protein-kinase C 蛋白激酶C **677**
proteoglycan 蛋白聚糖 **503**
protoaspiditrin 原蜘蛛抱蛋皂苷 **443**
protoberberine 原小檗碱 **120**
protocotoin 原可士树皮素 **653**
protogracillin 原纤细皂苷 **443**
protoilludane **199**
protokosine 原苦苏素 **658**
protopanaxadiol 20S-原人参二醇 **414**
protopanaxatriol 20S-原人参三醇 **423**
protopine 普罗托品 **119**
protostemonine 原百部碱 **136**
protozingberenssaponin 原盾叶皂苷 **443**
provincialin **222**
prunasin 野樱苷 **701**
prunin 江户樱花苷 **561**
psendolaric acid B 土槿皮乙酸 **113**
pseudocordatolide C **594**
pseudodiosgenindiacetate 二乙酰伪薯蓣皂苷元 **439**
pseudoephedrine 假麻黄碱 **129**
pseudoguaiane 伪愈创木烷 **198**
pseudoguaianolide 伪愈创木内酯 **200**
pseudopelletierine 伪石榴皮碱 **118**
pseudoplacodiolic acid **667**
pseudopurpurin 伪紫红素 **576**
pseudoreserpine 伪利血平 **154**
pseudorotation 快速互变 **495**
pseudotropine 伪莨菪醇 **141**
psoralen 补骨脂内酯 **591**
pterocarpin 紫檀素 **532**
pterosterone **282**
puberulin **640**
puberulonic acid 柔毛青霉酸 **656**
pucrarinxyloside 葛根素木糖苷 **527**
puerarin 葛根素 **565**
pulegone 胡薄荷酮 **177**
pulmatin 大黄酚苷 **574**
pulsatilloside C **426**
pungiolige **262**
purpureaglycoside 紫花洋地黄苷 **681**

purpurin 紫红素 576
purpurogallin 红紫棓素 656
pycnidione 263
pyranocoumarin 吡喃香豆素 591
pyranose 吡喃糖 496
pyrethrin 除虫菊酯 190
pyrethrosin 除虫菊内酯 217
pyridone 吡啶酮 160
pyridoxal 吡哆醛 451
pyridylalanine 吡啶基丙氨酸 Pal 450
pyrrolidine 吡咯烷 135
pyrrolizidine 双稠吡咯烷 135
pyruvate 826

Q

qianhucoumarin 前胡香豆素 593
qingdainone 青黛酮 769
qingfengmycin 庆丰霉素 92
qinghaosu 青蒿素 240
qingjinmycin 庆井霉素 92
quabain 毒毛旋花苷 1
quadrane 200
quassinane 苦木苦素 424
quassiol A 422
quercetin 槲皮素 562
quinazoline 喹唑 136
quinazolone 喹唑酮 133
4-quinazolone-3-acetic acid 4-喹唑酮-3-乙酸 133
quinic acid 奎宁酸 128
quinicine 奎宁毒 127
quinidine 奎尼定 127
quinine 奎宁 127
quinoline 喹啉 128
quinotoxine 奎宁毒 127
quinovose 奎诺糖 498
quinquenin L_1 西洋参 L_1 639
quinuclidine 奎宁环 128
quisqualic acid 使君子氨酸 457

R

rabdosin A 毛叶香菜素 A 352
rabdosin B 毛叶香菜素 B 352
radicicol 根赤壳菌素 657
raikovane 197
rapisterone 282
raugustine 萝古斯亭 154
raunescine 萝尼牛 154
rebaudioside A 莱鲍迪苷 A 352
recordil 立可定 562
reidispongiolide C 729
reineckateam monium 雷氏铵盐 117
renin 肾素 450
reserpine 利血平 151,781
resiniferatoxin 树脂大戟毒素 366
resiniferatol 树脂大戟醇 366
resveratroltrans-dehydro-dimer 677
resveratrol 白藜芦醇 675,704
retene 1-甲基-7-异丙基菲 322
reticulidin 202
retroiusticidin B 647
reynosin 208
rhamnetin 鼠李素 531
rhamnosylicariside 鼠李糖基淫羊藿次苷 539
rhapoticin 土大黄苷 655
rhein 大黄酸 575
rheochrysidin 575
rhinacanthins 617
rhodexin 万年青苷 695
rhodomyrtoxin 667
rhynchotechol 毛线柱苣苔蒽醌 582
ribitol 核糖醇 497
riccardins 677
ring-chaint auto merism 环-链互变异构 492
ritterazine A 773
robinin 刺槐苷 551
robustol 657
roridin A 205
roridin E 205
rorifamide 蔊菜酰氨 700
rorifone 蔊菜素 699
rosmarinic acid 迷迭香酸 677
rotatory locular counter current chromatography 旋转腔逆流层析 212
rotenone 鱼藤酮 532,647
rottlerin 橉毒素 653
rotundane 200
rotundin 左旋延胡索乙素 265
roxithromycin 罗红霉素 771
royleanone 罗列酮 330
rubescensin A 冬凌草甲素 352
rubescensin B 冬凌草乙素 352
rubescensin D 冬凌草丁素 357
rubiadin 茜根定 582
rubiadin-1-methylether 茜根定-1-甲醚 582
rubiadin-1-methylether-3-*O*-β-primeveroside 茜根定-1-甲醚-3-*O*-β-樱草糖苷 583
rubiadin-3-*O*-β-glucoside 茜根定-3-*O*-β-葡萄糖苷 582
rubiadin-3-*O*-β-primeveroside 茜根定-3-*O*-β-樱草糖苷 583

rubrofusarin 红镰孢素 **534**
rubrofusarin-6-β-gentiobioside 红镰孢素-6-β-龙胆二糖 **534**
rubrosterone 红苋甾酮 **273,282**
rubusoside 甜叶悬钩子苷 **359**
rugosal A **259**
rugosic acid **259**
ruscogenin 假叶树皂苷元 **442**
rutin 芦丁 **562**
6-C-rutiosylacacetin 6-C-芸香糖基金合欢素 **561**
ruvoside 黄夹次苷丙 **695**

S

S-1-amino-2-methoxymethyl-pyrrolidene S-1-氨基-2-甲氧甲基吡咯烷 **300**
sabinene 油冬青烯 **183**
saframycin B **712,834**
safrole 黄樟醚 **615**
salinamide **823**
salonitenolide **216**
salsolidine 鹿尾草定 **119**
salsoline 鹿尾草碱 **119**
salviaflaside **677**
salvianic acid A 丹参素 **677**
salvianolic acid 丹参酚酸 **13,677**
sanguinarine 血根碱 **7,120**
santalane 檀香烷 **198**
santamarin **208**
santonin 山道年 **206**
sarmentogenin 沙门苷元 **692**
sarmentose D-沙门糖 **684**
sarmentosin 垂盆草苷 **701**
sarsasapogenin 菝葜皂苷元 **437**
sativane **200**
sauchinone **645**
saussurenoside **620**
savinin **623**
saxifragifolin D 西克拉明苷元 D **414**
saxitoxin 石房蛤毒素 **826**
scalaranebased **727**
scandoside 鸡矢藤次苷 **186**
Schiff base 席夫碱 **759**
schiperine 希普林 **759**
schisandrin 五味子素 **615**
schisantherin Q 五味子酯 Q **637**
schizandrin C 五味子丙素,五味子醇甲 **756**
schweinfurthin **675**
scillaren A 海葱苷甲 **686**
sclerocarpic acid **207**
scoparone 滨蒿内酯 **591**
scopine 东莨菪醇 **141**
scopolamine 东莨菪碱 **138**
scopoletin 东莨菪内酯 **591**
scopolin 东莨菪苷 **591**
scopoline 异东莨菪醇 **141**
scytophycin **830**
secobatzelline **726**
seco-eudesmanolide 开环桉叶内酯 **200**
seco-germacranolide 开环牻牛内酯 **200**
secoguaiane 裂环愈创木烷 **197**
seco-guaianolide 开环愈创木内酯 **200**
seco-iridoid 裂环环烯醚萜 **183**
secoisolariciresinol 开环异落叶松树脂醇 **613**
secolactarane **196**
secologanin 开环番木鳖苷 **131**
secoprezizaane **198**
3,4-seco-pseudoguaianolide 3,4-开环伪愈创木内酯 **200**
4,5-seco-pseudoguaianolide 4,5-开环伪愈创木内酯 **200**
secospatacetal **713**
securinine 一叶秋碱 **136**
securinol 一叶萩醇碱 **136**
sedhydroxyeptulose 景天庚酮糖 **498**
seemarin **262**
selinane 桉叶烷 **197**
selinene 芹子烯 **220**
Se-methylselenocysteine 硒-甲基硒半胱氨酸,MSC **698**
semiochemical 信号化合物 **270**
senecioxy 千里光酰氧基 **593**
sengosterone **282**
sennidin A 番泻苷元 A **575**
sennidin B 番泻苷元 B **575**
sennoside 番泻苷 **575**
sepedonin **656**
sequence mapping 测定序列图谱 **568**
serine 丝氨酸 **449**
serotonin 色胺 **131**
serpentine 蛇根碱 **153**
serpentinine 蛇根双碱 **153**
sesamin 芝麻脂素 **632**
sesamolin 芝麻林脂素 **632**
seselin 邪蒿内酯 **592**
sesquilignans 倍半木脂体 **642**
sesquisabinane **197**
sesquiterpenyl coumarins 倍半萜类香豆素 **589**
sessilistemonine 直立百部碱,原百部碱 **143**
seudenol **293**
sex pheromone 性信息素 **271**
sfaframycin B **834**
shanzhiside 山栀苷 **186**

shikimic acid 莽草酸 **167,821**
shikodomedin **353**
shikokiamedin **353**
shikonin 紫草素 **1**
shizukaol **262**
shogaols 姜烯酚 **13**
siccanin 干蠕孢菌素 **657**
siccanochromene A-6 **657**
sculponeatin A **361**
sculponeatin C **361**
sidusterone **282**
silanol 硅醇 **14**
silenosterone **282**
silico-tungstic acid 硅钨酸 **116**
siloxane 硅氧环 **14**
silphiperfolane **199**
silybin 水飞蓟宾 **563**
simonsinol **642**
simplicissin **263**
sinabin 白芥子苷 **657,700**
sinaiticin **645**
sinapic acid 芥子酸 **677**
sinapylalchohol 芥子醇 **677**
sinigrin 芥子苷 **700**
sinoacutine 清风藤碱 **124**
sinogenin 辛诺苷元 **692**
sinomenine 防己碱,清藤碱 **124**
sinoside 辛诺苷 **692**
sinostroside 异辛诺苷 **692**
sirenin 雌诱素 **204**
sitosterol 谷甾醇 **284,582**
skimmianine 茵芋碱 **127**
skimmin 茵芋苷 **590**
slagenin **726**
smenotronic acid **263**
smilagenin 异菝契皂苷元 **437**
sodium 2-[(3α, 7α, 11α-trihydroxy-24-oxo-5β-cholan-24-yl) amino] ethane sulfonate **718**
sodwanone H **727**
sogdysterone **282**
solanidine 茄啶 **418**
solid-phasemicroextraction 固相微量提取技术,SPME **292**
solochrin **655**
sorbitol 山梨醇 **499**
sorokinianin **204**
spathulenol 匙叶桉油烯醇 **236**
sphagnum acid 泥炭藓酸 **677**
sphinxolides **729**
sphondin 6-甲氧基白芷内酯 **592**
spiro-[4,4]-nonane 螺环-[4,4]-壬烷 **378**
spiroaxane **197**
spirodienone 螺二烯酮 **644**
spirodysin **835**
spiroketallactone 螺旋缩酮内酯 **330**
spirolaurenane **197**
spirostane 螺旋甾烷 **437**
spongiabutenolides **728**
spongiaquinone **263**
sporochnols **712**
sprol 鸡肠大戟醇 **362**
(+)-S-prop-1-enyl-L-systeine-S-oxide 丙烯半胱氨酸亚砜 **699**
squalamine **711**
squalene 角鲨烯 **421**
stachybotrin **264**
stachysterone **282**
staurosporine **834**
steganacin **636**
steganone **636**
stellaheptaenoic acid **838**
stellarin A 繁缕环肽 A **92**
stemofoline 百部叶碱 **146**
stemonamide **149**
stemonamine 蔓生百部碱 **144**
stemonidine 百部定碱 **144**
stemonine 百部碱 **149**
stemoninine 百部新碱 **143**
stemoninoamide **150**
stemononine **150**
stemotinine 滇百部碱 **143**
stenine 百部宁碱 **144**
stephanine 千金藤碱 **120**
steric acid 硬脂酸 **703**
steviobioside 斯替维伯苷 **356**
steviol 甜菊醇 **356**
stevioside 甜菊苷 **352**
stictic acid 斑点酸 **655**
stilbene 二酚乙烯 **704**
stipitatic acid 柄状青霉酸 **456**
strigol **201**
D-strophanthin 羊角拗质,毒毛旋花素苷 **693**
strophanthine 毒毛旋花子苷 K **681,773**
strychnine 士的宁 **232,778**
suberosenone **262**
succinamopine 琥珀酰胺氨酸 **459**
succinate 琥珀酸酯 **830**
succinopine 琥珀酸氨酸 **460**
succinopinelactam 琥珀酸氨酸内酰胺 **459**

sulcadine 舒心啶 **761**
sulcatol **293**
1-sulfo-3-indolylmethyl glucosinolate 1-磺基芸苔苷 **700**
sulfoniumgonyol **833**
sulfuretin 硫黄菊素 **534**
super-critical carbond ioxide extraction 二氧化碳超临界提取 **167**
super critical fluid chromatography 超临界层析,SFC **384**
super critical fluid extraction 超临界流体萃取,超临界流体色谱,SFE **4,384,536**
sweroside 獐芽菜苷 **189**
swertiamarin 獐芽菜苦苷 **189**
swinholide **830**
sylvatesmin **632**
synomone 协同素 **271**

T

tacrine 他克林 **162,758**
taiwanin C **627**
takdiastase 高淀粉酶 **414**
tanacetin **215**
tandem mass spectrometry 串联质谱 **507**
tangeretin 橘黄素 **1**
tananparthin-α-peroxide **260**
tananparthin-β-peroxide **260**
tanshinone 丹参酮 **330**
tanshinone ⅡA 丹参酮ⅡA **330,788**
tartrolon B **830**
tautomycetin 互变异构菌亭素 **834**
tautomycin **834**
taxamairin A 美丽红豆杉A **317**
taxamairin B 美丽红豆杉B **317**
taxamairin C 美丽红豆素C **333**
taxane 紫杉烷 **305**
taxayuntin F **320**
taxchinin A **307**
taxchinin D **309**
taxin A 紫杉碱A **306**
taxoids 紫杉烷类二萜 **305**
taxol 紫杉醇 **305,766**
taxotere 紫杉醚 **308,766**
T-cadinthiol **266**
teaponin **346**
technology of DNA recombination 重组DNA技术 **820**
technology of hybridizable lymphosarcoma 淋巴细胞杂交瘤技术 **820**
technology of muta synthesis 突变生物合成技术 **820**
technology of tissue culture 组织培养技术 **820**
tectoquinone 顶生醌 **573**
teniposide 鬼臼甲叉苷 **625**,特尼泊苷 **726**
termilignan **617**
terpineol 松油醇 **177**
terrchinolide **369**
tert-leucine 叔-亮氨酸 **822**
7-TES-baccatin Ⅲ **313**
12-*O*-tetradecanoyl-phorbol-13-acetate 12-*O*-十四烷酰基大戟二萜醇-13-乙酸酯,TPA **363**
tetrahydro-cannabinol 四氢大麻酚 **656**
tetrahydrocannabidivarinic acid **656**
tetrahydrocannabinolic acid 四氢大麻酚酸 **656**
tetrahydrofolate 四氢叶酸 **830**
tetrahydrofuran 四氢呋喃 **628**
1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-3-carboxylic acid 四氢异喹啉羧酸,Tic **450**
tetrahydropalmatine 延胡乙素,四氢巴马汀 **120**
3,4,6,7-tetramethoxyphenanthrene 3,4,6,7-四甲氧基菲 **124**
tetramethylorientin 红草苷四甲醚 **555**
tetramethylpyrazine 四甲基吡嗪 **1**
tetramethylsilane 三甲基硅醚,TMS **29**
tetramic acid glycoside **726**
tetranolide **259**
tetranortriterpenoid 四去甲三萜 **424**
tetrazole 四氮唑,MTT **587**
tetrodotoxin 河豚毒素,TTX **712**
tettonic acid **728**
teucvidin **346**
teucvin **346**
teuflin **346**
teupernin **346**
thalifabatine 唐松草亭碱 **126**
thalifaberine 大叶唐松草碱 **125**
thalifarapine 唐松草拉平碱 **126**
thalifasine 唐松草丝碱 **126**
thamnsmin **602**
thapsigarin **205**
thebaine 蒂巴因 **121**
theopederin **729**
thevetin 黄花夹竹桃苷 **694**
thevetose 黄夹糖 **684**
thialicarpine 厚果唐松草碱 **126**
thienylalanine 噻吩丙氨酸,Thi **450**
4-thiocyanato-reoupukeanane **202**
thlifabine 126
threonine 苏氨酸 **449**
thujane 蒎烷 **169**
thujanol 侧柏醇 **183**
thujanone 侧柏酮 **183**

thujene 侧柏烯 **183**
thujopsane 斧柏烷 **199**
thymol 百里香酚 **167**
tibeticoside **629**
tigliane 巴豆烷 **362**
tiglic acid 顺芷酸 **824**,**660**
tigloyloxy 惕各酰氧基 **593**
tigogenin 提果皂苷元 **437**
tinyatoxin 丁亚毒素 **366**
tolytoxin **830**
toosendanin 川楝素 **424**
topoisomerase Ⅰ 拓扑异构酶Ⅰ **763**,**132**
topoisomerase Ⅱ 拓扑异构酶Ⅱ **646**
topotecan 拓扑特肯 **763**
total correlation spectroscopy 完全相关谱,TOCSY **65**,**507**
totaran 桃拓烷 **305**
trachapsane **200**
traditional Chinese medicine genome project 中药基因组计划,TCM-GP **568**
trail pheromone 追踪信息素 **271**
transcription mapping 转录图谱 **568**
trapoxin **814**
trchorabdal E **361**
trehalose 海藻糖 **499**
tremulane **198**
tricholecolone **221**
trichorabdal A **361**
trichorabdonin **360**
trichosanthin 天花粉蛋白,TCS **1**,**467**
trichothecin 单端孢菌素 **205**
tricyclovetivane **200**
trifolirhizin 二叶豆紫檀苷 **532**
3,4,8-trihydroxy-3′, 4′-dimethoxylignano-9, 9′-lactone **621**
3β, 7β, 11-trihydroxy-5α, 6α-epoxy-9, 11-secogorgostan-9-one **717**
3′,4,5′-trihydroxylstilbene 3′,4,5′-三羟基 1,2-二苯乙烯 **704**
trillin 延令草次苷 **441**
3,4,5-trimethoxyl benyl acid 3,4,5-三甲氧基苯甲酸 **155**
triosephate isomerase 磷酸丙糖异构酶 **821**
tripbromolide 雷公藤溴内酯醇 **326**
tripchlorolide 雷公藤氯内酯醇 **323**
tripdiolide 雷公藤内酯二醇,雷公藤乙素 **322**
triptolidane 雷公藤二萜 **322**
triptolide 雷公藤内酯 **788**,雷公藤甲素 **322**
triptolidenol 雷公藤内酯 **323**
triptonide 雷公藤内酯酮 **323**
triptriolide 雷公藤内酯三醇 **323**
trisdesaspidin **665**
trishizukaol **262**
trisparaaspidin **665**
tritopine 劳丹宁 **122**
tropane 托品烷 **829**,莨菪烷 **136**
tropic acid 莨菪酸 **139**
tropine 莨菪醇 **139**
tropinic acid 托品酸 **140**
tropolone **263**
tryptophan 色氨酸 **449**
trytanthrin 色氨酮 **769**
tubeimoside 土贝母苷 **418**
tuberosinone 珠砂莲素 **655**
tuberosinone- N-β-D-glucoside 珠砂莲苷 **655**
tuberostemonine 大叶百部碱,对叶百部碱 **136**
tuberostemoninoamide **151**
tuberostemonol **151**
tuberostemonine **151**
turkesterone **283**
tutin 羟基马桑内酯 **206**
tyrocidine **448**
tyrosine 酪氨酸 **677**,**590**,**449**

U

ulapualide **830**
ullcyclamide **728**
ultrafiltration 超滤法,UF **536**
ultrasonic extraction 超声提取技术,UE **536**
umbelliferone 伞形花内酯 **590**
umbrosin A **360**
(1,3*Z*,5*Z*,8*Z*)-undecatetraene **840**
uralenic acid 乌拉尔甘草次酸 **425**
urethane 氨基甲酸酯 **465**
urospermal **214**
ursane 乌索烷 **426**
urushiol 漆酚 **652**
usnic acid 松萝酸 **667**
utahin **656**

V

vacomycin **102**
vacuum liquid chromatography 减压液相色谱,VLC **597**
valarianane **199**
valepotriate 缬草素 **186**
valerane 缬草烷 **198**
valine 缬氨酸 **822**,**449**
valinomycin 缬氨霉素 **448**
vatdiospyroidol **677**
velbenamine 维尔朋胺 **157**
velerenane **198**

velivane **198**
veraguensin **629**
verbascoside 毛蕊花糖苷 **501**
verbena oil 马鞭草油 **180**
verbenalin 马鞭草苷 **186**
verbenol 马鞭草烯醇 **295**
verbenone 马鞭草烯酮 **180**
vernosistifolide **212**
verrucarin **205**
vertispirane **197**
vinblastine 长春碱 **765,151**
vincamine 长春胺 **157**
vincoside **131**
vincristine 长春新碱 **765,151**
vindesine 长春地辛 **765**
vindoline 文朵灵 **765,157**
viniferin **677**
viperidinone **283**
viperidone **283**
viscosin **822**
vitellin 蛋黄素 **288**
vitexin 牡荆苷,牡荆素 **552**
viticosterone E **283**
vitisifuran **675**
vitisin A **677**
volubilin 黄檀异黄酮苷 **555**
vulgarnycin **834**

W

warburganal 瓦尔伯醛 **301**
wiksstroemin 南尧苷 **530**
wogonoside 汉黄芩苷 **530**
wedelolactone 蟛蜞菊内酯 **593**
wenchuasensin **620**
widdrane 羽毛柏烷 **198**
wogonin 汉黄芩素 **530**
woorenogenin **639**
wuweizisu C 五味子丙素 **796**

X

xanthaline 鸦片黄碱 **122**
xanthanolide 开环愈创木内酯 **220**
xanthonolignan **645**
xanthophyll 叶黄素 **708**
xanthotoxin 花椒毒内酯 **591**
xanthotoxol 花椒毒酚 **591**
xanthoxin 黄氧素 **201**
xanthoxyletin 美花椒内酯 **592**
xanthyetin 花椒内酯 **592**
xiphidone **654**
7-*O*-xylosyl puerarin 7-木糖-葛根素 **532**

Y

yohimbine 育亨宾 **153**
yingzhaosu 鹰爪素 **259**
ylangane 依兰烷 **199**
yuanhuacine 芫花酯甲 **366**
yuanhuadine 芫花酯乙 **366**
yunnaneic acid **679**

Z

zaluzanin **266**
zearalenone 玉米烯酮 **658**
zeaxanthin 玉米黄素 **826**,玉蜀黍黄素 **708**
zerumbone **207**
zeylanene **214**
zeylanin **214**
zingiberene-3,6-α-endoperoxide **258**
zingiberene-3,6-β-endoperoxide **258**
zingiberol 姜醇 **13**
zinniol **651**
zizaane **200**
zwitterion 两性离子 **450**

附录三　中文生物学名索引

(Biology Name Index in Chinese)

一　画

一叶荻　*Securinega suffruticosa* (Pall.) Rehd.　**136**
一枝黄花　*Solidago decurrens* Lour.　**659**

二　画

七叶一枝花　*Paris polyphylla* Smith　**437**
了哥王　*Wikstroemia indica* (L.) C. A. Mey.　**530**
二色桌片参　*Mensamaria intercedens* Lampert　**744**
二歧双叉藻　*Bifurcaria bifurcata*　**713**
人参　*Panax ginseng* C. A. Mayer　**423,531**
儿茶　*Acacia catechu*　**533**
八角枫　*Alangium chinense* (Lour.) Harms　**101**
八角莲　*Podophyllum pleianthum* Hance　**624**

三　画

万年青　*Rhodea japonica* Roth　**695**
三七　*Panax notoginseng* (Burkill) F. H. Chen　**423**
三白草　*Saururus chinensis* (Lour.) Baill.　**645**
三棵针　*Berberis lecomtei* Schneid.　**120**
千层塔　*Huperzia serrata* (Thunb) Trev.　**645,657**
七大黄　*Rheum rhaponticum* L.　**655**
土贝母　*Bolbostemma paniculatum* (Maxim.) Franquet　**428**
土荆芥　*Chenopodium ambrosioides* L.　**180**
土槿皮　*Pseudolarix kaempferi* Gorden　**113**
大叶仙茅　*Curculigo capitulata* (Lour.) O. Ktze.　**644**
大叶唐松草　*Thalictrum faberi* Ulbr　**125**
大叶醉鱼草　*Buddleia davidii* Franch.　**645**
大叶繁缕　*Stellaria delavayi* Fr.　**98**
大花黄花蒿　*Artemisia annua* L.　**7,240,754**
大豆　*Glycine max* L. Merr.　**563**
大青　*Clerodendron cyrtophyllum* Turcz.　**329**
大茴香　*Illicium verum* Hook. f.　**231**
大绿柄桑　*Chlorophora excelsa* (Welw.) Benth.　**655**
大麻　*Cannabis sativa* var. *indica*　**644,656**
大黄　*Rheum officinale* Baillon　**575**
大斑蝥　*Mylabris phalerata* Pallas　**767**
大葱　*Allium fistulosum* L.　**699**
大蒜　*Allium sativum* L.　**697**
大蓟　*Cirsium japonicum* DC.　**530**
大蠊　*Periplaneta americana*　**292**
女贞　*Ligustrum lucidum* Ait.　**425**
小长春花　*Vinca minor* L.　**156**
山甘草　*Mussaenda pubescens* Ait. f.　**11,434**
山豆根　*Cajanus cajan* (L.) Mill.　**532**
山扁豆　*Cassia mimosoides* L.　**575**
山荷叶　*Diphylleia grayi*　**624**
山萆薢　*Dioscorea tokoro* Mak.　**441**
山银柴胡　*Arenaria juncea* Bieb.　**92**
山楂　*Crataegus pinnatifida* Bge. Var *major* N. E. Br.　**533**
山蒟　*Piper hancei* Maxim.　**638**
川牛膝　*Cyathula capitata* Moq.　**273**
川芎　*Ligusticum chuanxiong* Hort.　**166**
川萆薢　*Dioscorea septemloba* Thunb.　**441**
川楝　*Meliato osendan* S. et Z.　**424**
广玉兰　*Magnolia grandiflora*　**120**
马尾松　*Pinus massoniana* Lamb.　**180**

四　画

中华大蟾酥　*Bufo bufo gargarizans* Cantor　**695**
丹参　*Salvia miltiorrhiza* Bunge　**330,639,677**
乌头　*Aconitum carmichaeli* Debx.　**119**
乌药　*Lindera strychnifolia* Vill.　**261**
云木香　*Saussurea lappa* Clarke　**207**
云南八角　*Illicium simonsii*　**642**
云南丹参　*Salvia yunnanensis* C. H. Wright　**642**
云南羌活　*Pleurospermum rivulorum* (Diels) K. T. Fu et Y. C. Ho　**604**
云南松　*Pinus yunnanensis* Fr.　**180**
云南萝芙木　*Rauwolfia yunnanensis* Tsiang　**152**
云南鼠尾草　*Salvia yunnanensis* C. H. Wright　**679**
云南繁缕　*Stellaria yunnanensis* Franch.　**92**
五味子　*Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill.　**756**
井冈链霉菌　*Streptomyces jinggangmycin*　**92**
天门冬　*Asparaguscochi chinensis* (Loureio) Merrill　**443**
天师栗　*Aesculus wilsonii* Rehd.　**412**
天花粉　*Tricho santheskirilowii* Maxim　**467**
巴天酸模　*Rumex patientia* L.　**575**
巴西双翅白蛉　*Lutzomyia longipalpis*　**204**
巴西南洋杉　*Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze　**644**
心叶棱子芹　*Pleurospermum rivulorum* (Diels) K. T. Fu et Y. C. Ho　**604**
无翅红椿　*Pyrrhocoris apterus*　**204,288**
日本凹顶藻　*Laurencia nipponica* Yamada　**202,843**
日本弧　*Popilla japonica*　**295**
日本金粟兰　*Chloranthus japonicus* Sieb.　**262**

日本厚朴 *Magnolia obovata* Thunb. **641,651**
日本落叶松 *Larixlepto lepis* (Sieb. et zucc.) Gordon **639**
月腺大戟 *Euphorbia ebiactenlata* Hayata **329**
木香 *Aucklandia lappa* Decne. **166**
木霉多孢菌 *Tricho dermapolysporum* **769,463**
毛叶香茶菜 *Rabdosia japonica* (Burm. f.) Hara **352**
毛瓦叶金花 *Mussa endapubescens* Ait. f. **11,434**
毛花洋地黄 *Digitalis lanata* Ehrh. **681**
毛线柱苣苔 *Rhynchotechum vestitum* Hook. f. et Thoms. **582**
毛喉鞘蕊花 *Coleus forskohlii* (Willd.) Briq. **334**
毛蒟 *Piper puberulum* (Benth.) Maxim. **640**
毛蕨 *Cyclosorus interruptus* (Willd.) H. **608**
水飞蓟 *Silybum marianum* Gaertn. **531**
水华束丝藻 *Aphanizomenon flos-aquae* (L.) Ralfs **826**
水苦买 *Veronica anagallis-aquatica* L. **261**
牛膝 *Achyranthes bidentata* Bl. **273,426**
王瓜 *Tricho santhescucumeroides* (Ser.) Maxim. **466**
瓦利缬草 *Valeriana wallichii* DC. **186**
车前 *Planta goasiatica* L. **188,530**
长叶松 *Pinus palustris* Miller **182**
长春花 *Catharanthus roseus* (L.) G. Don **156**
长春花 *Vinca rosea* L. **156,765**
长穗大黄 *Rheum moorcroftianum* Royle **576**
长囊水云 *Ectocarpus siliculosus* (Dillw.) Lyngb. **838**
风毛菊 *Saussurea japonica* (Thunb.) DC. **720**

五　画

东方珊瑚树 *Stereocaulon paschale* Hoffm. **655**
丝凹顶藻 *Laurencia filiformis* **202**
仙客来 *Cyclamen europaeum* L. **414**
仙鹤草 *Agrimonia pilosa* Ledeb. **652**
冬虫夏草菌 *Isaria sinclarii* (Berk.) Lloyd. **769**
冬凌草 *Rabdosia rubescens* (Hemsl.) Hara **351**
出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* **826**
加州蝠蛾 *Hepialus californicus* **293**
加拿大香胶冷杉 *Abies balsamea* Miller **288**
北美甘草 *Glycyrrhiza lepidota* (Nutt.) Pursh **676**
古柯 *Erythroxylon coca* Lam. **135**
台湾罗汉松 *Podocarpus nakaii* Hayata **273**
台湾扁柏 *Chamaecyparis taiwanensis* Masam. et Suzuki **656**
四迭团扇藻 *Padina tetrastromatica* Hauck **712**
宁夏枸杞子 *Lycium bararum* L. **508**
对叶百部 *Stemona tuberosa* Lour **143**
巨大鞘丝藻 *Lyngbyama jusculа* Harvey **830**
巨蚕 *Hyalophora cecropia* **288**
玄参 *Scrophularia ningpoensis* Hemsl. **188**
玉叶金花 *Mussa endapubescens* Ait. f. **11,434**
瓜叶乌兜铃 *Aristolochia cucurbitifolia* Hayata **263**
甘松香 *Nardostachys chinensis* Batal. **205**
甘青大戟 *Euphorbia micractina* **364**
甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. **425,530**
甘遂 *Euphorbia kansui* Liou. **364**
白毛夏枯草 *Ajuga decumbens* Thunb. **273**
白头翁 *Pulsatilla chinensis* (Bge.) Reg. **426**
白术 *Atractylodesmacrocephala* **166,265**
白色念珠菌 *Candida albicans* **726**
白芍 *Paeonia lactiflora* Pall. **180**
白芥 *Brassica alba* (L.) Boiss. **700**
白芥 *Sinapis alba* L. **657**
白花前胡 *Peucedanum praeruptorum* Dunn **593**
白花曼佗罗 *Datura metel* L. **139**
白芷 *Angelica dahurica* Benth. et Hook **166**
白斑角鲨 *Squalus acanthias* **711**
白鲜 *Dictamnus dasycarpus* Turcz. **127**
白鹤灵芝 *Rhinacanthus nasutus* (L.) Kurz **617**
石韦 *Pyrrosialingua* (Thunb.) Farw. **534**
石胡荽 *Centipeda minima* (L.) A. Br. et Aschers. **224,660**
石蚕香科 *Teucrium chamaedrys* **346**
石榴 *Punica granatum* L. **654**
石横衣 *Xanthoria parietina* (L.) Belt **655**
艾 *Artemisia argyi* Lévl. et Vant. **166**
艾纳香 *Blumea balsamifera* DC. **181**
边缘列子藻 *Stoechospermum marginatum* (C. Ag.) Kuetz. **713**
辽东楤木 *Aralia elata* (Miq.) Seem. **498**
龙脑香树 *Curcuma aromatica* Salisb. **181**

六　画

亚洲玉米螟 *Ostrinia furnacalis* Guenee **348**
伊利尔大翅蓟 *Onopordum illyricum* L. **643**
农吉利 *Crotalaria sessiliflora* L. **135**
决明 *Cassia tora* L. **534,574**
刘寄奴 *Artemisia anomala* S. Moore. **261**
华山松 *Pinus armandii* Franch. **180**
华中五味子 *Schisandrasphenanthera* Rehd. etWils. **617**
印度马兜铃 *Aristolochia indica* **669**
印度萝藦 *Hemidesmusindicus* R. Br. **645,657**
印楝 *Azadirachtaindica* A. Juss. **424**
吐根 *Uragogaipecacuanha* Baill. **120**
地枫皮 *Illiciumdifengpi* K. I. B. etK. I. M. **639**
地黄 *Rehmanniaglutinpsa* (Gaertn.) Libosch. **188**
地锦 *Euphorbia humifusa* Willd. **540**
多孔木霉霉菌 *Trichodermapolysporum* **769,463**
多边膝沟藻 *Gonyaulaxpolyedra* Stein **832**
多伞阿魏 *Ferulaferulaeoides* (Stued.) Korov. **594**

多点林蚁 *Formicapolyctena* **301**
多瓣木 *Dryasoctopetala* **7**
夹竹桃 *Neriumindicum* Mill **681**
安达树 *Joannesiaprinceps* Vell. **261**
尖刺菱形藻 *Nitzschiapungens* Grunow. **834**
庆丰链霉菌 *Streptomycesqingfengmycin* **92**
延胡索 *Corydalisambigua* Ch. etSchl. **120**
异型南五味子 *Kadsura heteroclita*(Roxb.)Craib **637**
当归 *Angelica sinensis*(Oliv.)Diels **166**
杂色曲霉 *Aspergillusversicolor*(Vuill) **264,576**
江剪刀草 *Rorippamontana* Small **699**
百日青 *Podocarpus nakaii* Hayata **273**
百眼藤 *Morindaparvifolia* Bartl. **574**
米泊里 *Eriostemonmyoporoides* **597**
红色产色链霉菌 *Streptomyceserythrochromogenes* **458**
红花 *Carthamustinctorius* L. **532**
红花八角 *Illiciumdunnianum* Tutcher **642**
红花五味子 *Schisandrarubriflora*(Franch.)Rehd. etWils. **617**
红花杜鹃 *Rhododendronarboreum* Smithf. Roseum Sweet **530**
红松 *Pinus koraiensis* Sie Z. **180**
红果萝芙木 *Rauvolfia chinensis* Hemsl. **152**
红树海鞘 *Ecteinascidia turbinate* **711,834**
红茶渍 *Lecanora rubina*(Vill.) Ach. **668**
红褐林蚁 *Formica rufa* **301**
网地藻 *Dictyota dichotoma*(Huds.) Lamx. **713**
羊角拗 *Strophanthus divaricotus*(Lour.) Hook. et Arn. **692**
羊角藤 *Morinda umbellata* L. **574**
羽珊瑚 *Clavularia inflata* Scheuk **265**
肉苁蓉 *Cistan chesalsa*(C. A. Mey.) G. Beck **186**
肉果草 *Lancea tibetica* Hook. F. et Thoms. **629**
肉桂 *Cinnamomum cassia* Presl **166**
舌形厚缘藻 *Dilophus ligulatus*(Kuetzing) Feldmann **713**
芋螺 *Conus magnus* **711**
芍药 *Paeonia albiflora* Pall. **180**
芒果 *Mangifera indica* L. **534**
血根 *Lachnan thestinctoria* Ell. **674**
西奎尔氏 *Euphorbia segurieriana* Subsp. Nicicicana **370**
西洋参 *Panax quinquefolium* L. **639**
西洋茜草 *Rubia tinctorum* L. **574**
问荆 *Equisetum arvense* L. **531**
防己 *Sinomenium acutum* Rehder et Wison **115**
阴地蒿 *Artemisia sylvatica* Maxim. **262**
齐墩果 *Olea europoea* **425**

七 画

两面针 *Zanthoxylum nitidum*(Roxb.) DC. **567**
串珠耳叶苔 *Frullania tamarisci* Moniliata **261**
冷饭团 *Kadsura coccinea*(Lem.) A. C. Smith **637**
卵叶厚壳树 *Ehretia ovalifolia* Hassk. **644**
圆柏 *Juniperus chinensis* L. **641**
尾叶香茶菜 *Rabdosia excisa*(Maxim.) Hara **359**
庐山香科 *Teucrium pernyi* Franch. **346**
忍冬藤 *Lonicera japonica* Thunb. **530**
旱地菊 *Bacharis megapotamica* Spreng. **205**
旱莲草 *Eclipta prostrata* L. **593**
杠柳 *Periploca sepium* Bge. **693**
极叉开拉瑞阿 *Larrea divaricata* DC. **617**
汶川柴胡 *Bupleurum wenchuanense* Shanet Y. Li **620**
犹太桧 *Juniperus utahensis*(Engelm.) **656**
皂树 *Quillaia saponaria* Molina **419**
皂荚 *Gleditschia sinensis* Lam. **431**
肠浒苔 *Enteromorpha intestinalis*(L.) Link. **833**
芥 *Brassica juncea*(L.) Czern. et Coss. **700**
芫花 *Daphne genkwa* Sieb. et Zucc. **366,530**
芫荽 *Coriandrum sativum* L. **166**
花刺参 *Stichopus var. iegatus* Semper. **723**
花翅小卷蛾 *European grapevinemoth* **296**
花翅小卷蛾 *Lobesia botrana* Denis et Schiffermuller **296**
花斑皮蠹 *Trogoderma var. iable* Ballion **295**
花椒 *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. **166**
芹 *Oenanthe javanica*(Bl.) DC. **530**
苍术 *Atractylodes lancea* **166**
苍耳 *Xanthium strumarium* auct. sinnon L. **262**
苏丹棉铃虫 *Diparopsis castanea* Hamp. **297**
辛荑 *Magnolia biondii* Pamp. **628**
远志 *Polygala tenuifolia* Willd. **426**
连翘 *Forsythia suspense* Vahl **613**
针毛壮灯心草 *Juncus roemerianus* **655**
阿勒颇侧大戟 *Euphorbia aleppica* L. **370**
陈皮 *Poncirus trifoliatea* Raf. **530**
鸡矢藤 *Paederia scandens*(Lour.) Merr. **186**
鸡肠狼毒 *Euphorbia prolifera* Buch. Ham. **370**
鸡骨常山 *Alstonia yunnanensis* Diels **156**
麦仙翁 *Agrostemma githago* L. **79**
麦冬 *Ophiopogon japonicus* Ker-Gawl. **442**

八 画

使君子 *Quisqualis indica* L. **457**
侧柏 *Biota orientalis*(L.) Endl. **182**
兔耳枫 *Ainsliae afragrans* Champ. **226**
具边乳节藻 *Galaxaura marginata* **716**
刺五加 *Acanthopanax senticosus*(Rupr. et Maxim.) Harms **693**
刺五加 *Eleutherococcus senticosus* Max. **693**
刺异叶花椒 *Zanthoxylum dimorphophyllum* Hemsl. *var.*

spinifolium Rehd. et Wils **603**
刺参 *Stichopus japonicus* Selenka **723**
刺柏 *Juniperus formosana* Hayata **626**
和黄连 *Coptis japonica* Makino **639**
咖啡 *Coffea arabica* L. **652**
囤槐尺蠖 *Macaria elongaria* Leech **301**
坤甸铁樟木 *Eusideroxylon zwageri* **641**
垂盆草 *Sedumsarmentosum* Bge. **16,701**
放线菌 *Streptomyces spcucetins* **573**
杰氏阿魏 *Ferula jaeschkeana* Vatke **230**
松干蚧 *Matsucoccus matsumurae* Pine **301**
松蓝 *Isatis tinctoria* L. **700**
林麝 *Moschus berezovskii* **705**
欧洲紫杉 *Taxus baccata* **617**
河套大黄 *Rheum hotaoense* C. Y. Cheng et C. T. Kao **584**
油茶 *Camellia oleifera* Abe **15**
沿阶草 *Ophiopogon japonicus* Ker-Gawl. **442**
波状网翼藻 *Dictyopteris undulata* Holmes **263,712**
波斯菊 *Cosmosbipn natus* Cav. **534**
泽漆 *Euphorbia helioscopia* L. **329**
爬山虎 *Parchenocissus tricuspidata* (Siebetzuce) Planch **460**
玫瑰 *Rosa rugosa* Thunb. **259**
玫瑰绿褐链霉菌新种 *Streptomyces roseoviride* fuscusn. sp. **458**
直立百部 *Stemona sessilifolia* (Miq.) Miq. **143**
知母 *Anemarrhena asphodeloides* Bunge **437,534**
细花百部 *Stemona parviflora* C. H. Wright **143**
细辛 *Asarum sieboldi* Mig. **4**
细柱五加 *Acanthopanax gracilistylus* W. W. Smith **693**
肺衣 *Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm. **655**
肾斑皮蠹 *Trogoderma inclusum* Le Conte **295**
肿柄菊 *Tithonia tagiliflora* **210**
苦木 *Quassia indica* (Gaertn.) Nooteboom. **422**
苦瓜子 *Momordica charantia* Linn **77,466**
苦杏仁 *Prunus armeniaca* L. **701**
苦苏 *Hagenia abyssinica* Willd. **661**
苦鸡皮衣 *Pertusaria amara* (Ach.) Nyl. **655**
苦参 *Sophora flavescens* Ait. **532**
苦枥白蜡树 *Fraxinus rhynchophylla* Hance. **609**
苹果 *Malus pumila* Mill. **532**
虎杖 *Polygonum cuspidatum* S. et Z. **576**
虎眼万年青 *Ornithogalum saundersiae* **418**
贪婪倔海绵 *Dysidea avara* **266**
贯叶连翘 *Hypericum perforatum* L. **531**
贯众 *Cyrtomium fortunei* J. Sm. **661**
郁金 *Curcuma wenyujin* Y. H. Chen et C. Ling **166,259**
郁金香 *Curcuma wenyujin* Y. H. Chen et C. Ling **166,259**
金刚大 *Croomia japonica* Miq. **144**
金龟草 *Cimicifuga japonica* (Tmunb.) Spreng. **414**
金线吊乌龟 *Stephania cepharantha* Hayata **670**
金疮小草 *Ajuga decumbens* Thunb. **346**
金荞麦 *Fagopyrum cymosum* Meissn **533,652**
金银花 *Lonicera japonica* Thunb. **530**
雨生血球藻 *Haematococcus pluvialis* **825**
青木香 *Aristolochia debilis* S. et Z. **655**
青葙子 *Stellaria delavayi* Fr. **98**
青蒿 *Artemisia apiacea* Hce. **240**
青黛 *Indigofera tinctoria* L. **768**
青藤 *Sinomenium acutum* Rehder et Wison **115**
鱼腥草 *Houttuynia cordata* Thunb. **1**
齿小蠹 *Ips paracomfusus* **294**
齿果酸模 *Rumex dentatus* L. **575**
齿缘墨角藻 *Fucus serratus* L. **839**
狭叶百部 *Stemona mairei* (Levl.) Krause **149**

九 画

南大戟 *Euphorbia jolkini* Boiss. **329**
南五加 *Acanthopanax gracilistylus* W. W. Smith **693**
南五味子 *Kadsura longipedunculata* Finet et Gagn. **637**
南岭前胡 *Peucedanum longshengense* Shan et Sheh **593**
南蒿 *Artemisia abrotanum* L. **258**
厚朴 *Magnolia officinalis* R. et W. **641**
厚缘藻 *Dilophus okamurai* Dawson **713**
叙利亚枣 *Zizyphus spina-christi* (L.) Willd. **21**
姜 *Zingiber officinale* Rosc. **13,166,652**
姜黄 *Curcum alonga* L. **166,652**
威氏海链藻 *Thalassiosira weissflogii* **716**
威灵仙 *Clematis chinensis* Osbeck **413,634**
帝锦 *Euphorlna lacteal* Haw. **363**
总合草兽虫 *Bugula neritina* Linnaeus **720**
总状青木香 *Inula racemosa* Hook. **259**
恒春槙楠 *Persea oborutifolia* (Hay.) Kostermans **644**
枯草杆菌 *Bacillus subtilis* **212,727**
染料衣 *Roccella tintoria* DC. **655**
柔毛柿 *Diospyros mollis* Griff. **654**
柚木 *Tectona grandis* L. fil **573**
柯托树 *Nectandra coto* Rusby **653**
柳叶牛膝 *Achyranthes longifolia* Mak. **273**
柳珊瑚 *Plexa urahomonnala* **710**
栀子 *Gardenia jasminoides* **186**
栎扁枝衣 *Evernia prunastri* (L.) Ach. **655**
树棉 *Gossypium arboreum* L. **654**
毒胡罗卜 *Thapsia garganica* L. **205**
毗黎勒 *Terminaliabellirica* (Gaertn.) Roxb. **617**
洋金花 *Datura metel* L. **139**
洋葱 *Allium cepa* L. **699**
洋橄榄 *Olea europoea* **189**

点头菊 *Cremanthodium ellisii* Kitam. **634**
独脚金 *Striga lutea* L. **203**
狭叶艾 *Artemisia selengensis* Turcz. **262**
珊瑚 *Calicogorgia granulosa* **261**
相思豆 *Abrus precatorius* L. **152**
盾叶鬼臼 *Podophyllum peltatum* L. **624**
盾叶薯蓣 *Dioscorea zingiberensis* C. H. Wright **441**
穿心莲 *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees **334**
穿龙薯蓣 *Dioscorea nipponica* Mak. **441**
窃衣 *Torilis japonica* (Houtt.) DC. **179**
类生卵孢菌 *Oospora sulphurea-ochracea* **655**
美丽颤藻 *Oscillatoria formosa* Bory **829**
美国白蛾 *Hyphantria cunea* Drury **301**
美洲商陆 *Phytolacca americana* **641**
茜草 *Rubia cordifolia* L. **574**
茯苓 *Poria cocos*(Schw.) Wolf **422,539**
茴芹 *Pimpinella anisum* L. **4**
茴香 *Foeniculum vulgare* Miller **179**
茵芋 *Skimmia reevesiana* Fort. **127**
茵陈 *Artemisia capillaria* Thunb. **166,651**
茶 *Camellia sinensis* O. Ktze. **6**
荆三棱 *Scirpus fluviatilis* (Torr.) A. Gray **704**
草生欧文氏菌 *Erwinia herbicola* **826**
草地夜蛾 *Spodoptera frugiperda* (Smith) **297**
荔枝草 *Salvia plebeian* R. Br. **530**
荚蒾 *Viburnum dilatatum* Thunb. **651**
荜澄茄 *Piper cubeba* L. **628**
荞麦 *Fagopyrum esculentum* Moench **531**
荠菜 *Capsella bursa-pastoris* (L.) Medic. **700**
蚀船虫 *Limnoria lignorum* **293**
钝叶牛膝 *Achyranthes obtusifolia* Lam. **273**
钝叶决明 *Cassia obtusifolia* L. **577**
钝形凹顶藻 *Laurencia obtuse* (Huds.) Lamx. **202**
钩腺大戟 *Euphorbia sieboldiana* Morr. et Dene. **329**
除虫菊 *Chrysanthemum cinerariaefolium* (Trev.) Bocc. **190**
除虫菊 *Pyrethrum cinerariaefolium* Bocc. **190**
韭菜 *Allium tuberosum* Roxb. **699**
须松萝 *Usnea barbata* **653**
香杨梅 *Myrica gale* L. **657**
香没药 *Commiphora guidotti* Chiov. **207**
香附 *Cyperus rotundus* Linn. **259**
香坡垒 *Hopea odorata* Roxb. **652**
香桃木 *Myrtus communis* L. **180,653**
香鳞毛蕨 *Dryopteris fragrans* (L.) Schott **265**
骆驼蓬 *Peganum harmala* L. **152**
鬼臼 *Podophyllum versipelle* Hance **624**
鸦胆子 *Brucea javanica* (L.) Merr. **425**

十 画

俯仰爵床 *Justicia hayatai var. decumbens* **647**
倒卵叶润楠 *Machilus obovatifolia* (Hayata) Kanehira et Sasaki **640**
唐古特山莨菪 *Anisodus tanguticus* (Max.) Pasch. **141**
唐古特莨菪 *Scopolia tangutica* Maxim. **1,141**
唐古特瑞香 *Daphne tangutica* Maxim. **366**
圆叶泽兰 *Eupatorium rotundifolium* L. **210**
圆当归 *Angelica archangelica* L. **596**
圆果雪胆 *Hemsleya amabilis* Diels **424**
夏至欠车菊 *Centaurea solstitialis* L. **212**
宽翅曲背蝗 *Pararcyptera microptera* Meridionalis (Ukonn.). **204**
夜光蕈 *Clitocybe illudens* **204**
恶性疟原虫 *Plasmodium falciparun* **240**
柴胡 *Bupleurum chinense* DC. **426**
栝楼 *Tricho santheskirilowii* Maxim **467**
桃儿七 *Sinopodophyllum emodi* (Wall. et Royle) Ying **624**
桑 *Morus alba* L. **273,531**
桑白盾蚧 *Pseudaulacaspis pentagona* Targioni **298**
枯 *Poncirus trifoliatea* Raf. **530**
海人草 *Digenea simplex* (Wulf.) C. Ag. **455**
海巴戟 *Morinda citrifolia* L. **574**
海木狗牙花 *Ervatamia heyneana* (Wall.) T. Cooke **736**
海风藤 *Piper futo-kadsura* Sieb. **638,652**
海索草 *Hyssopus officinalis* **780**
海通 *Clerodendrum mandarinorum* Diels **329**
海葱 *Scilla maritima* **681**
海鞘 *Trididemnum solidum* **711**
烟曲霉 *Aspergillus fumigatus* **204**
烟草铃虫 *Helio thiszta* **302**
狼毒 *Euphorbia fischeriana* Steud. **328**
狼毒大戟 *Euphorbia fischeriana* Steud. **328**
珠子草 *Phyllanthus niruri* L. **617**
珠节决明 *Cassia torosa* L. **542**
皱叶酸模 *Rumex crispus* L. **575**
积雪草 *Centella asiatica* (L.) Urban **23,412**
粉红螟蛉蛾 *Pectinophor gossypiella* Saund **293**
粉纹夜蛾 *Plusia ni* **297**
绣球花 *Hydrangea macrophylla* (Thunb.) Ser. **655**
臭味假柴龙树 *Nothapodytes foetida* (Wight) Sleumer **763**
莎草 *Cyperus rotundus* Linn. **259**
莪术 *Curcuma zedoaria* (Berg.) **259**
莲 *Nelumbo nucifera* Gaertner **119**
莽草 *Illicium lanceolatum* A. C. Smith **231**
蚕蛾 *Bombyx mori* L. **292**
钻天柳 *Chosenia arbutifolia* (Pall.) A. Skv. **643**
铁刀木 *Cassia siamea* Lam. **574**

铁海棠 *Euphorbia milli* Ch. des Moulins **363**
铃兰 *Convallaria keiskei* Miq **441**
高良姜 *Alpinia officinarum* Hance **531**

十一画

假贝母 *Bolbostemma paniculatum* (Maxim.) Franquet **428**
商陆 *Phytolacca esculenta* van Houtte **419**
啤酒花 *Humulus lupulus* L. **666**
密蒙花 *Buddleia officinalis* Maxim. **530**
常山 *Dichroa febrifuga* Lour. **132,760**
康毗苺毛旋花 *Strophanthus kombe* Oliv. **835**
教酒链霉菌 *Streptomyces chartreasis* **458**
旋幽夜蛾 *Scogogramma trifoli* **297**
曼陀罗 *Datura stramonium* L. **139**
望江南 *Cassia occidentalis* **575**
望春花 *Magnolia fargesii* Cheng **626**
梅花参 *Thelenota ananas* Jaeger **733**
梓 *Catalpa ovata* G. Don **188**
淡水硅藻 *Asterionella formosa* Hassall. **839**
淡色库蚊致乏亚种 *Culex pipiens fatigans* **299**
淫羊藿 *Epimedium grandiflorum* Morr. **539**
猫眼草 *Chrysosplenium grayanum* Maxim. **567**
甜叶菊 *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bert. **352**
盗毒蛾 *Porthetria dispar* **295**
珠砂连 *Aristolochia tuberosa* C. F. Liang et S. M. Hwang **655**
粗内枝藻 *Endocladia muricata* (PistetRupr.) J. Ag. **843**
粗齿小蠹 *Ips calligraphu* **295**
续随子 *Euphorbia lathyris* L. **367**
绵萆薢 *Dioscorea septemloba* Thunb. **441**
绿玉树 *Euphorbia tirucalli* L. **329**
绿刺参 *Stichopus chloronotus* Brandt **723**
绿毒毛旋花 *Strophanthus kombe* Oliv. **835**
绿藻孔石莼 *Ulva lactuca* **716**
菊 *Chrysanthemum morifolium* Ramat. **530**
菌蠹甲蟲 *Gnathotrichus sulcatus* (Lexontee Conte) **295**
菖蒲 *Acorus calamus* L. **203**
菟丝子 *Cuscuta chinensis* Lam. **633**
菱形长春藤 *Hedera rhombea* Sieb. et Zucc. **420**
菲岛楸 *Mallotus philippinensis* Muel. Arg. **653**
萝卜 *Raphanus sativus* L. **700**
萝芙木 *Rauwolfia serpentina* L. Benth **152**
萤光假单胞菌 *Pseudomonas fluorescens* **822**
蛇皮掌 *Euphorbia lacteal* Haw. **363**
蛇床 *Cnidium monnieri* (L.) Cusson **595**
蛇足石杉 *Huperzia serrata* (Thunb) Trev. **645,657**
蛇根草 *Rauwolfia serpentina* L. Benth **152**
野甘草 *Scoparia dulcis* L. **567**
野菊花 *Dendranthema indicum* (L.) Des Moul. **170**
银杏 *Ginkgo biloba* L. **378,538,651**
银桦 *Grevillea robusta* A. Cunn. **657**
雪莲 *Saussurea lanceps* Hand. Mazz. **567**
鹿尾草 *Salsola richteri* Karelin **119**
麻黄 *Ephedra equasetina* Bge. **533**
黄牛 木 *Cratoxylum cochin-chinensis* (Lour.) Blume **645**
黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi **550**
黄芪 *Astragalus membranaceus* Beg. **423**
黄花夹竹桃 *Thevetia peruviana* Merr. **694**
黄花海罂粟 *Glaucium flavum* Crantz **670**
黄花蒿 *Artemisia annua* L. **7,240,754**
黄连 *Coptis chinensis* Franch **120**
黄连木 *Pistacia chinensis* Bunge **595**
黄杞 *Phellodendron amurense* Rupr. **531**
黄香草木犀 *Melilotus officinalis* (L.) Desr. **590**
黄瑞香 *Daphne giraldii* Nitsche **366**
黄瘤孢 *Sepedonium chrysospermum* **656**

十二画

博落回 *Macleaya cordata* (Will) R. Br. **120**
喜树 *Camptotheca acuminata* Decne. **131,763**
掌叶大黄 *Rheum palmatum* L. **677,574**
斐济海鞘 *Polysyncraton lithostrotum* **834**
斑皮按 *Eucalyptus maculata* Hook. **654**
斑蝥 *Mylabris sidae* Fabr. **192**
智利马兜铃 *Aristolochia chilensis* Miers **628**
棉叶麻疯树 *Jatropha gossypifolia* **655**
棕色金鸡纳树 *Cinchona condaminea* Humb. Et Bonpl. **127**
棕色扁海绵 *Phakellia fusca* Schimidt **730**
棘辐肛参 *Actinopyga echinites* Jage **734**
温州蜜桔 *Citrusunshiu* Marcovitch **424**
温郁金 *Curcuma wenyujin* Y. H. Chen et C. Ling **166, 259**
湖北大戟 *Euphorbia hylonoma* Hand. Mazz. **369**
溲疏 *Deutzia scabra* Thunb. **188**
番木瓜 *Carica papaya* L. **708**
番泻叶 *Cassia angustifolia* Vahl **575**
番椒 *Capsicum annuum* L. **652**
番樱桃大戟 *Euphorbia myrsinites* L. **370**
短叶红豆杉 *Taxus brevifolia* Nutt. **306**
短叶紫杉 *Taxus brevifolia* Nutt. **645**
短舌匹菊 *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bup. **260**
短裸甲藻 *Gymnodinium brevis* **830**
窝儿七 *Diphylleia sinensis* Li **624**
筋骨草 *Ajuga decumbens* Thunb. **346**
紫玉盘 *Uvaria microcarpa* Champ. **567**
紫地黄 *Rehmannia glutinosa* (Gaertn.) Libosch. *var. pur-*

purea Makino **501**
紫花杜鹃 *Rhododendron mariae* Hance **530**
紫花洋地黄 *Digitalis purpurea* L. **681**
紫花络石 *Trachelospermum axillare* Hook. f. **620**
紫苏 *Perilla nankinensis* Decne. **166**
紫苑 *Asterta tauricus* L. f. **531**
腊梅 *Chimonanthus praecox* (L.) Link **531**
葛根 *Pueraria hirsuteauct*. non Schneider **538**
葡萄 *Vitis vinifera* **2,704**
葡萄果蠹 *Eupoecilla ambiguella* **296**
蒿蒿 *Artemisia maritime* **5**
道士蒿 *Artemisia douglasiana* **258**
阔叶千里光 *Senecio platyphyllus* DC. **135**
黑老虎 *Kadsura coccinea* (Lem.) A. C. Smith **637**
黑花延命草 *Isodon trichocarpus* Kudo **352**
黑乳参 *Miicrothelen obilis* Selenka **733**
黑指纹海兔 *Aplysia dactylomela* **202**
黑眶蟾酥 *Bufo melanostictus* Schneider **695**

十三画

催吐萝芙木 *Rauwolfia vomitoria* Afzel. Ex Spreng. **152**
微点雀尾藻 *Taonia atomaria* **713**
新疆党参 *Codonopsis clematidea* Schrenk Clarke **135**
新疆紫草 *Arnebia euchroma* (Royle) Johnst **646**
暗鳞鳞毛蕨 *Dryopteris atrata* (Wall.) Ching **265**
椿叶花椒 *Zanthoxylum ailanthoides* Sieb. et Zucc. **614**
槐 *Sophora japonica* L. **530**
滇白珠 *Gaultheria yunnanensis* (Franch.) Rehd. **626**
满山红 *Rhododendron mariesii* Hemsl. et Wils. **531**
瑞香狼毒 *Stellera chamaejasme* L. **595**
睡菜 *Menyanthes trifoliata* L. **189**
腰果 *Anacardium occidentale* L. **651**
蓍草 *Achillea depressa* Janka. **227**
蓝贝 *Mytilus edulis* Galloprovincialis **728**
辐肛参 *Actinopyga lacanora* Jaeger **733**
锡兰叶下珠 *Phyllanthus myrtifolius* Moon. **625**
雷公藤 *Tripterygium wilfordii* Hook **322**
鼠李 *Rhamnus purshiana* DC. **531,575**
鼠疟原虫 *Plasmodium berghai* **240,662**

十四画

截尾海兔 *Dolabella auricularia* **711**
漆树 *Rhus vernicifera* Stokes **652**
熊耳草 *Ageratum houstonianum* Mil. **290**
罂粟 *Papaver somniferum* L. **121,460**
腐败希瓦菌 *Shewanella putrefaciens* **824**
舞毒蛾 *Lymantria dipar* L. **301**
焊菜 *Roripa montana* Small **699**
蔓生百部 *Stemona japonica* Miq. **143**
蜀葵叶薯蓣 *Dioscorea althaeoides* R. Knuth **441**
褐叶土牛膝 *Achyranthes rubrofusca* Wight **273**
褐藻叶托马尾藻 *Sargassum carpophyllum* **718**
辣椒 *Capsicum frutescens* L. **708**
酸枣 *Zizyphus spinosus* Hu **423**
酿酒酵母 *Saccharomyces cerevisiae* **726**

十五画

墨西哥棉铃象 *Anthonomus grandis* Boheman **295**
德州切叶蚁 *Atta texana* **295**
樟 *Cinnamomum camphora* (L.) Presl **166**
橡芥 *Evernia prunastri* (L.) Ach. **655**
稻瘟霉 *Pyricularia oryzae* **719**
缬草 *Valeriana officinalis* L. **181**
番荔枝 *Annona squamosa* L. **98**

十六画

橙 *Citrus sinensis* **166**
橙色海绵 *Agelas nakamurai* H. **99,726**
燃料茜草 *Rubia tinctorum* L. **576**
燕麦德氏霉 *Drechslera avenae* (Eidam) **203**
糖昆布 *Laminaria saccharina* **840**
薄荷 *Mentha arvensis* L. **175**
薏米仁 *Coix lachryma-jobi* L. **651,703**
颠茄 *Atropa belladonna* L. **139**
颠茄 *Solanum aculeatissimum* Jacq. **444**
鹤鸽菜 *Caloglossa leprieurii* (Mont.) J. Ag. **455**

十七画

爵床 *Justicia procumbens* L. **626**
穗花罗汉松 *Podocarpus spicatus* R. Br. **620**
穗花香科 *Teucrium japonicum* Willd. **346**
鳄梨 *Persea americana* Mill. **498**

十八画及以上

瞿麦 *Dianthus superbus* L. **92**
翻车鲀 *Mola mola* **718**
藜芦 *Veratrum album* L. **655**
鹰爪 *Artabotrysuncinatus* (L.) Merr. **259**
藿香 *Agastacherugosa* Fisch. Et Mey. O. Kize **166**
露水草 *Cyanotis arachnoidea* C. B. Clarke **273**

附录四　拉丁文生物学名索引

(Biology Name Index in Latin)

A

Abies balsamea Miller　加拿大香胶冷杉　**288**
Abrus precatorius L.　相思豆　**152**
Acacia catechu　儿茶　**533**
Acanthella cavernosa　**202**
Acanthopanax gracilistylus W. W. Smith　南五加,细柱五加　**693**
Acanthopanax senticosus (Rupr. et Maxim.) Harms　刺五加　**693**
Acalypha India　**573**
Achillea depressa Janka.　耆草　**227**
Achyranthes bidentata Bl.　牛膝　**273,426**
Achyranthes longifolia Mak.　柳叶牛膝　**273**
Achyranthes obtusifolia Lam.　钝叶牛膝　**273**
Achyranthes rubrofusca Wight　褐叶土牛膝　**273**
Aconitum carmichaeli Debx.　乌头　**119**
Acorus calamus L.　菖蒲　**203**
Actinopyga echinites Jage　棘辐肛参　**734**
Actinopyga lacanora Jaeger　辐肛参　**733**
Adocia aculeate　**726**
Aesculus wilsonii Rehd.　天师栗　**412**
Agastache rugosa Fisch. et Mey. O. Ktze　藿香　**166**
Agelas mauritianus　**711**
Agelas nakamurai H.　橙色海绵　**99,726**
Ageratum houstonianum Mil.　熊耳草　**290**
Agrimonia pilosa Ledeb.　仙鹤草　**652**
Agrobacterium aurantiacum　**824**
Agrobacterium fumefaciens　**459**
Agrostemm agithago L.　麦仙翁　**79**
Ainsliaea fragrans Champ.　兔耳枫　**226**
Ajuga decumbens Thunb.　白毛夏枯草　**273**,筋骨草,金疮小草　**346**
Alangium chinense (Lour.) Harms　八角枫　**101**
Allium cepa L.　洋葱　**699**
Allium fistulosum L.　大葱　**699**
Allium sativum L.　大蒜　**697**
Allium tuberosum Roxb.　韭菜　**699**
Allomyce ssabriscula　**204**
Alpinia densibracteat　**258**
Alpinia officinarum Hance　高良姜　**531**
Alstonia yunnanensis Diels　鸡骨常山　**156**
Alternaria zinniar　**651**
Amphiponus lactifloreus　**711**
Anabaena flos-aque　**829**
Anacardium occidentale L.　腰果　**651**
Analysmene stellata　**838**
Andrographis paniculata (Burm. f.) Nees　穿心莲　**334**
Anemarrhena asphodeloides Bunge　知母　**437,534**
Angelica archangelica L.　圆当归　**596**
Angelica dahurica Benth. et Hook　白芷　**166**
Angelica sinensis (Oliv.) Diels　当归　**166**
Anibama gaphylla　**654**
Anisodus tanguticus (Max.) Pasch.　唐古特山莨菪　**141**
Annona squamosa L.　番荔枝　**98**
Anthonomus grandis Boheman　墨西哥棉铃象　**295**
Apalochlamys spectabilis (Labill.)　**260**
Aphanizomenon flos-aquae (L.) Ralfs　水华束丝藻　**826**
Aplidium albican　**711**
Aplysia dactylomela　黑指纹海兔　**202**
Aplysina auliformis　**726**
Aralia elata (Miq.) Seem.　辽东楤木　**498**
Araucaria angustifolia (Bert.) O. Kuntze　巴西南洋杉　**644**
Arenaria juncea Bieb.　山银柴胡　**92**
Arigozan thasrufus　**674**
Aristolochia chilensis Miers　智利马兜铃　**628**
Aristolochia cucurbitifolia Hayata　瓜叶马兜铃　**263**
Aristolochia debilis S. et Z.　青木香　**655**
Aristolochia indica　印度马兜铃　**669**
Aristolochia tuberosa C. F. Liang et S. M. Hwang　硃砂莲　**655**
Arnebia euchroma (Royle) Johnst.　新疆紫草　**646**
Artabotrys uncinatus (L.) Merr.　鹰爪　**259**
Artemisia abrotanum L.　南蒿　**258**
Artemisia alla　**258**
Artemisia annua L.　黄花蒿,大花黄花蒿　**7,240,754**
Artemisia anomala S. Moore.　刘寄奴　**261**
Artemisia apiacea Hce.　青蒿　**240**
Artemisia argyi Lév L. et Vant.　艾　**166**
Artemisia caerulescene　**259**
Artemisia capillaria Thunb.　茵陈　**166,651**
Artemisia difusa　**259**
Artemisia douglasiana　道士蒿　**258**
Artemisia maritima　蛔蒿　**5**
Artemisia selengensis Turcz.　狭叶艾　**262**
Artemisia sylvatica Maxim.　阴地蒿　**262**
Asarum sieboldi Mig.　细辛　**4**

Ascochyta viciae Lib. **657**
Asparagus cochi chinensis (Loureio) Merrill 天门冬 **443**
Aspergillus fumigatus 烟曲霉 **204**
Aspergillus versicolor (Vuill) 杂色曲霉 **264,576**
Aspidio tusneri **204**
Asterta taricus L. f. 紫苑 **531**
Asterionella formosa Hassall. 淡水硅藻 **839**
Astragalus membranaceus Bge. 黄芪 **423**
Astrotoma agassizi **717**
Atractylodes lancea 苍术 **166**
Atractylodes macrocephala 白术 **166,265**
Atropa belladonna L. 颠茄 **139**
Atta texana 德州切叶蚁 **295**
Aucklandia lappa Decne. 木香 **166**
Axinella weltneri **727**
Axinyssa aplysinoides **266**
Azadirachta indica A. Juss. 印楝 **424**

B

Baccharis megapotamica Spreng. 旱地菊 **205**
Bacillus subtilis 枯草杆菌 **212,727**
Berberis lecomtei Schneid. 三棵针 **120**
Bifurcaria bifurcata 二歧双叉藻 **713**
Biota orientalis (L.) Endl. 侧柏 **182**
Blumea balsamifera D C. 艾纳香 **181**
Bolbostemma paniculatum (Maxim.) Franquet 假贝母,土贝母 **428**
Bombyx mori L. 蚕蛾 **292**
Bossiella orbigniana **841**
Brassica alba (L.) Bois S. 白芥 **700**
Brassica juncea (L.) Czern. et Coss. 芥 **700**
Brucea javanica (L.) Merr. 鸦胆子 **425**
Buddleia davidii Franch. 大叶醉鱼草 **645**
Buddleia officinalis Maxim. 密蒙花 **530**
Buelliaca nescens (Dicks.) **656**
Bufo bufo gargarizans Cantor 中华大蟾蜍 **695**
Bufo melanostictus Schneider 黑眶蟾蜍 **695**
Bugula neritina Linnaeus 总合草苔虫 **720**
Bupleurum chinense D C. 柴胡 **426**
Bupleurum salicifolium Subsp. **620**
Bupleurum wenchuanense Shan et Y. Li 汶川柴胡 **620**

C

Cajanus cajan (L.) Mill. 山豆根 **532**
Calicogorgia granulosa 珊瑚 **261**
Caloglossa leprieurii (Mont.) J. Ag. 鹧鸪菜 **455**
Calophyllum lanigerum var. austrocoriaceum **594**
Camellia oleifera Abel 油茶 **5**
Camellia sinensis O. Ktze. 茶 **6**
Camptothecaacuminata Decne. 喜树 **131,763**
Candida albicans 白色念珠菌 **726**
Cannabis sativa var. indica 大麻 **644,656**
Capsella bursa-pastoris (L.) Medi C. 荠菜 **700**
Capsicum annuum L. 番椒 **652**
Capsicum frutescens L. 辣椒 **708**
Carica papaya L. 番木瓜 **708**
Carthamus tinctorius L. 红花 **532**
Cassia angustifolia Vahl 番泻叶 **575**
Cassia mimosoides L. 山扁豆 **575**
Cassia obtusifolia L. 钝叶决明 **577**
Cassia occidentalis 望江南 **575**
Cassia siamea Lam. 铁刀木 **574**
Cassia tora L. 决明 **534,574**
Cassia torosa L. 珠节决明 **542**
Cassiopeia xamachana **823**
Catalpa ovata G. Don 梓 **188**
Catharanthus roseus (L.) G. Don 长春花 **156**
Centaurea solstitialis L. 夏至矢车菊 **212**
Centella asiatica (L.) Urban 积雪草 **23,412**
Centipeda minima (L.) A. Br. et Ascher S. 石胡荽 **224,660**
Cephalodiscus gilchristi **773**
Chaeronema hispidulum **267**
Chamaecyparis taiwanensis Masam. et Suzuki 台湾扁柏 **656**
Chenopodium ambrosioides L. 土荆芥 **180**
Chimonanthus praecox (L.) Link 腊梅 **531**
Chloranthus japonicus Sieb. 日本金粟兰 **262**
Chlorophora excelsa (Welw.) Benth. 绿柄桑 **655**
Chosenia arbutifolia (Pall.) A. Skv. 钻天柳 **643**
Chrysanthemum cinerariaefolium (Trev.) Boc C. 除虫菊 **190**
Chrysanthemum morifolium Ramat. 菊 **530**
Chrysosplenium grayanum Maxim. 猫眼草 **567**
Cimicifuga japonica (Tmunb.) Spreng. 金龟草 **414**
Cinchona condaminea Humb. et Bonpl. 棕色金鸡纳树 **127**
Cinnamomum camphora (L.) Presl 樟 **166**
Cinnamomum cassia Presl 肉桂 **166**
Cirsium japonicum D C. 大蓟 **530**
Cistan chesalsa (C. A. Mey.) G. Beck 肉苁蓉 **186**
Citrus sinensis 橙 **166**
Citrus unshiu Marcovitch 温州蜜橘 **424**
Clavularia inflata Scheuk 羽珊瑚 **265**
Clematisch inensis Osbeck 威灵仙 **413,634**
Clerodendron cyrtophyllum Turcz. 大青 **329**
Clerodendrum mandarinorum Diels 海通 **329**
Clitocybe illudens 夜光蕈 **204**
Cnidium monnieri (L.) Cusson 蛇床 **595**

Codonopsis clematidea Schrenk Clarke 新疆党参 **135**
Coffea arabica L. 咖啡 **652**
Coix lachryma-jobi L. 薏米仁 **651,703**
Coleus forskohlii (Willd.) Briq. 毛喉鞘蕊花 **334**
Commiphora guidotti Chiov. 香没药 **207**
Conus magnus 芋螺 **711**
Convallaria Keiskei Miq 铃兰 **441**
Coptis chinensis Franch 黄连 **120**
Coptis japonica Makino 和黄连 **639**
Coriandrum sativum L. 芫荽 **166**
Corydalis ambigua Ch. et Schl. 延胡索 **120**
Cosmosbipin natus Cav. 波斯菊 **534**
Crataeguspin natifida Bge. Var *major* N. E. Br. 山楂 **533**
Cratoxylum cochin-chinensis (Lour.) Blume. 黄牛木 **645**
Cremanthodium ellisii Kitam. 点头菊 **634**
Croomia japonica Miq. 金刚大 **144**
Crotalaria sessiliflora L. 农吉利 **135**
Culex pipiens fatigans 淡色库蚊致乏亚种 **299**
Cunila spicata Benth. **179**
Curculigo capitulata (Lour.) O. Ktze. 大叶仙茅 **644**
Curcuma aromatica Salisb. 龙脑香树 **181**
Curcuma longa L. 姜黄 **166,652**
Curcuma wenyujin Y. H. Chen et C. Ling 温郁金,郁金,郁金香 **166,259**
Curcuma zedoaria (Berg.) 莪术 **259**
Cuscuta chinensis Lam. 菟丝子 **633**
Cyanotis arachnoidea C. B. Clarke 露水草 **273**
Cyathula capitata Moq. 川牛膝 **273**
Cyclamen europaeum L. 仙客来 **414**
Cyclosorus interruptus (Willd.) H. 毛蕨 **608**
Cymbastela hooperi **266**
Cyperus rotundus Linn. 莎草,香附 **259**
Cyrtomium fortunei J. Sm. 贯众 **661**
Cystophora brownii **713**

D

Daphne genkwa Sieb. et Zuc C. 芫花 **366,530**
Daphne giraldii Nitsche 黄瑞香 **366**
Daphne tangutica Maxim. 唐古特瑞香 **366**
Datura metel L. 白花曼佗罗,洋金花 **139**
Datura stramonium L. 曼陀罗 **139**
Dendranthema indicum (L.) Des Moul. 野菊花 **170**
Deutzias cabra Thunb. 溲疏 **188**
Dianthus superbus L. 瞿麦 **92**
Dichroa febrifuga Lour. 常山 **132,760**
Dictamnus dasycarpus Turcz. 白鲜 **127**
Dictyopteris undulata Holmes 波状网翼藻 **263,712**
Dictyota dichotoma (Hud S.) Lamx. 网地藻 **713**
Digenea simplex (Wulf.) C. Ag. 海人草 **455**
Digitalis lanata Ehrh. 毛花洋地黄 **681**
Digitalis purpurea L. 紫花洋地黄 **681**
Dilophus ligulatus (Kuetzing) Feldmann 舌形厚缘藻 **713**
Dilophus okamurai Dawson 厚缘藻 **713**
Dioscorea althaeoides R. Knuth 蜀葵叶薯蓣 **441**
Dioscorea nipponica Mak. 穿龙薯蓣 **441**
Dioscorea septemloba Thunb. 绵萆薢,川萆薢 **441**
Dioscorea tokoro Mak. 山萆薢 **441**
Dioscorea zingiberensis C. H. Wright 盾叶薯蓣 **441**
Diospyros mollis Griff. 柔毛柿 **654**
Diparopsis castanea Hamp. 苏丹棉铃虫 **297**
Diphylleia grayi 山荷叶 **624**
Diphylleia sinensis Li. 窝儿七 **624**
Diplazium subsinuatum (Wall. exHook. et Grev.) Tagawa **427**
Discodermia dissolute **834**
Dittrichia viscose **259**
Dolabella auricularia 截尾海兔 **711**
Drechslera avenae (Eidam) 燕麦德氏霉 **203**
Dryas octopetala 多瓣木 **7**
Dryophanta divisa **656**
Dryopteris atrata (Wall.) Ching 暗鳞鳞毛蕨 **265**
Dryopteris fragrans (L.) Schott 香鳞毛蕨 **265**
Dysidea avara 贪婪倔海绵 **266**
Dysidea fronosa **206**
Dysidea herbacea **728,830**
Dysoxylum spectabile **204**

E

Eclipta prostrata L. 旱莲草 **593**
Ecteinascidia turbinate 红树海鞘 **711,834**
Ectocarpus siliculosus (Dillw.) Lyngb. 长囊水云 **838**
Ehretia ovalifolia Hassk. 卵叶厚壳树 **644**
Eleutherococcus senticosus Max. 刺五加 **693**
Emmotum nitens (Benth.) Miers **653**
Encyothalia cliftonii **712**
Endocladia muricata (Pist et Rupr.) J. Ag. 粗内枝藻 **843**
Enteromorpha intestinalis(L.) Link. 肠浒苔 **833**
Ephedra quisetina Bge. 麻黄 **533**
Epimedium grandiflorum Morr. 淫羊藿 **539**
Equisetum arvense L. 问荆 **531**
Eriostemon myoporoides 米泊里 **597**
Ervatamia heyneana (Wall.) T. Cooke 海木狗牙花 **736**
Erwinia herbicola 草生欧文氏菌 **826**
Erwinia uredova **826**
Erythroxylon coca Lam. 古柯 **135**
Eucalyptus maculate Hook. 斑皮按 **654**

Eupatorium rotundifolium L. 圆叶泽兰 **210**
Euphorbia acanlis **329**
Euphorbia aleppica L. 阿勒颇测大戟 **370**
Euphorbia canariensis L. **368**
Euphorbia candicifolia **329**
Euphorbia ebiacteolata Hayata 月腺大戟 **329**
Euphorbia fidjiana **329**
Euphorbia fischeriana Steud. 狼毒,狼毒大戟 **328**
Euphorbia helioscopia L. 泽漆 **329**
Euphorbia huachangana **329**
Euphorbia humifusa Willd. 地锦 **540**
Euphorbia hylonoma Hand. Mazz. 湖北大戟 **369**
Euphorbia jolkini Boiss. 南大戟 **329**
Euphorbia kansui Liou. 甘遂 **364**
Euphorbia lacteal Haw. 帝锦,蛇皮掌 **363**
Euphorbia lathyris L. 续随子 **368**
Euphorbia micractina 甘青大戟 **364**
Euphorbia milli Ch. desMoulins 铁海棠 **363**
Euphorbia myrsinites L. 番樱桃大戟 **370**
Euphorbia obtusifolia **363**
Euphorbia ocruensis **368**
Euphorbia pallasii Turcz. **329**
Euphorbia pithyusa L. **363**
Euphorbia portulacoides L. **329**
Euphorbia prolifera Buch. Ham. 鸡肠狼毒 **370**
Euphorbia seguieriana Subsp. Niciciana 西奎尔氏 **370**
Euphorbia semiperfoliata **329**
Euphorbia sieboldiana Morr. et Dcne. 钩腺大戟 **329**
Euphorbia terracina L. **329**
Euphorbia tirucalli L. 绿玉树 **329**
Eupoecilla ambiguella 葡萄果蠹 **296**
Europeangrape vinemoth 花翅小卷蛾 **296**
Eusideroxylon zwageri 坤甸铁樟木 **641**
Evernia prunastri (L.) Ach. 橡苔,栎扁枝衣 **655**

F

Fagara rhetza Roxb. D C. **619**
Fagopyrum cymosum Meissn 金荞麦 **533,652**
Fagopyrum esculentum Moench 荞麦 **531**
Fasciosciongiaca vernosa **727**
Ferula ferulaeoides (Stued.) Korov. 多伞阿魏 **594**
Ferula jaeschkeana Vatke 杰氏阿魏 **230**
Foeniculum vulgare Miller 茴香 **179**
Formica polyctena 多点林蚁 **301**
Formica rufa 红褐林蚁 **301**
Forsythia suspense Vahl 连翘 **613**
Fraxinus rhynchophylla Hance. 苦枥白蜡树 **609**
Frullania tamarisci Moniliata 串珠耳叶苔 **261**
Fucus serratus L. 齿缘墨角藻 **839**
Fusea longifolia **670**

G

Galaxaura marginata 具边乳节藻 **716**
Ganoderma japonicum (Fr.) Lloyd 灵芝 **422**
Gardenia jasminoides 栀子 **186**
Gaultheria yunnanensis (Franch.) Rehd. 滇白珠 **626**
Geigeria plumose **260**
Giffordia mitchellae (Harv.) Hamel. **840**
Ginkgo biloba L. 银杏 **378,538,651**
Glaucium flavum Crantz 黄花海罂粟 **670**
Gleditschia sinensis Lam. 皂荚 **431**
Glycine max L. Merr. 大豆 **563**
Glycyrrhiza lepidota (Nutt.) Pursh 北美甘草 **676**
Glycyrrhiza uralensis Fisch. 甘草 **425,530**
Glyptopetalum sclerocarpum Law S. **207**
Gnathotrichus sulcatus (Lexon tee Conte) 菌蠹甲蛤 **295**
Gonyaulax polyedra Stein 多边膝沟藻 **832**
Gossypium arboreum L. 树棉 **654**
Gossypium herbaceum L. 棉 **531**
Gracilariopsis lemaneiformis **840**
Grevillea robusta A. Cunn. 银桦 **657**
Grifola conffuence **652**
Gymnodinium brevis 短裸甲藻 **830**

H

Haematococcus pluvialis 雨生血球藻 **825**
Hagenia abyssinica Willd. 苦苏 **661**
Halichondria panicea **657**
Hedera rhombea Sieb. et Zuc C. 菱形长春藤 **420**
Helianthus ciliaris D C. **234**
Helio thiszta 烟草铃虫 **302**
Helminthos porium catenarium **577**
Helminthos porium siccans **657**
Hemidesmus indicus R. Br. 印度萝藦 **645,657**
Hemsleya amabilis Diels 圆果雪胆 **424**
Hepialus californicus 加州蝙蛾 **293**
Heterotropa takaoi (F. Maek.) **654**
Holuthuria vagabunda **739**
Homopymia comferta **726**
Hopea odorata Roxb. 香坡垒 **652**
Houttuynia cordata Thunb. 鱼腥草 **1**
Humulus lupulus L. 啤酒花 **666**
Huperzia serrata (Thunb) Trev. 蛇足石杉,千层塔 **160, 758**
Hyalophora cecropia 巨蚕 **288**
Hydrangea macrophylla (Thunb.) Ser. 绣球花 **655**
Hypericum perforatum L. 贯叶连翘 **531**
Hyphantria cunea Drury 美国白蛾 **301**

Hyrtiose rectus **727**
Hyssopus officinalis 海索草 **780**

I

Illicium difengpi K. I. B. et K. I. M. 地枫皮 **639**
Illicium dunnianum Tutcher 红花八角 **642**
Illicium lanceolatum A. C. Smith 莽草 **231**
Illicium simonsii 云南八角 **642**
Illicium verum Hook. f. 大茴香 **231**
Indigofera tinctoria L. 青黛 **768**
Inula racemosa Hook. 总状青木香 **259**
Ips calligraphu 粗齿小蠹 **295**
Ips paraconfusus 齿小蠹 **294**
Irvingia malayana Oliv. Ex Benn. **641**
Isaria sinclarii (Berk.) Lloyd. 冬虫夏草菌 **769**
Isatis tinctoria L. 松蓝 **700**
Isodon kameba **351**
Isodon trichocarpus Kudo 黑花延命草 **352**
Isoplexis isabelliana Masfi **585**

J

Jatropha gossypifolia 棉叶麻疯树 **655**
Joannesia princeps Vel L. 安达树 **261**
Juncus roemerianus 针毛壮灯心草 **655**
Jungermannia infusca (Mitt.) Steph. **258**
*Juniperus chinensis*L. 园柏 **641**
Juniperus formosana Hayata 刺柏 **626**
Juniperus thurifera L. **628**
Juniperus utahensis (Engelm.) 犹太桧 **656**
Justicia hayatai var. decumbens 俯仰爵床 **647**
Justicia procumbens L. 爵床 **626**

K

Kadsura coccinea (Lem.) A. C. Smith 冷饭团,黑老虎 **637**
Kadsura heteroclita (Roxb.) Craib 异型南五味子 **637**
Kadsura longipedunculata Finet et Gagn. 南五味子 **637**

L

Lachnan thestinctoria El L. 血根 **674**
Laminaria saccharina 糖昆布 **840**
Lancea tibetica Hook. F. et Thom S. 肉果草 **629**
Larixlepto lepis (Sieb. et zucc.) Gordon 日本落叶松 **639**
Larrea divaricata D C. 极叉开拉瑞阿 **617**
Lasiolae nasanloi **227**
Laurencia claviformis **202**
Laurencia filiformis 丝凹顶藻 **202**
Laurencia japonica **202**
Laurencia nipponica Yamada 日本凹顶藻 **202,843**
Laurencia obtuse (Hud S.) Lamx. 钝形凹顶藻 **202**
Lecanora rubina (Vill.) Ach. 红茶渍 **668**
Lensendeldia chondrodes **725**
Leontoden hispidus **262**
Libertia coerulescens **574**
Ligusticum chuanxiong Hort. 川芎 **166**
Ligustrum lucidum Ait. 女贞 **425**
Limnoria lignorum 蚀船虫 **293**
Lindera piperiarpa **651**
Lindera strychnifolia Vill. 乌药 **261**
Lissoclium patella **728,834**
Lithothamnion corallioides **838,841**
Lobaria pulmonaria (L.) Hoffm. 肺衣 **655**
Lobesia botrana Denis et Schiffermuller 花翅小卷蛾 **296**
Locusta migratoria **204**
Lonicera japonica Thunb. 忍冬藤,金银花 **530**
Lupinus ergenteus **15**
Lutzomyia longipalpis 巴西双翅白蛉 **204**
Lycium barurum L. 宁夏枸杞子 **508**
Lymantria dipar L. 舞毒蛾 **301**
Lynghyama jusculu Harvey 巨大鞘丝藻 **830**

M

Macaria elongaria Leech 国槐尺蠖 **301**
Machilus obovatifolia (Hayata) Kanehira et Sasaki 倒卵叶润楠 **640**
Macleaya cordata (Will) R. Br. 博落回 **120**
Magnolia biondii Pamp. 辛夷 **628**
Magnolia fargesii Cheng 望春花 **626**
Magnolia grandiflora 广玉兰 **120**
Magnolia obovata Thunb. 日本厚朴 **641,651**
Magnolia officinalis R. et W. 厚朴 **641**
Mallotus philippinensis Muel. Arg. 菲岛楸 **653**
Malus pumila Mill. 苹果 **532**
Manduca sexta **290**
Mangifera indica L. 芒果 **534**
Massarina tunicata **205**
Matsucoccus matsumurae Pine 松干蚧 **301**
Melia toosendan S. et Z. 川楝 **424**
Melilotus officinalis(L.) Desr. 黄香草木犀 **590**
Memnoniella echinata (Rivolta) Galloway **263**
Mensamaria intercedens Lampert 二色桌片参 **744**
Mentha arvensis L. 薄荷 **175**
Menyanthes trifoliata L. 睡菜 **189**
Microcys tisacruginosa **826**
Miicrothelen obilis Selenka 黑乳参 **733**
Mola mola 翻车鲀 **718**
Momordica charantia Linn 苦瓜子 **77,466**
Morinda citrifolia L. 海巴戟 **574**

Morinda elliptica Ridley **585**
Morinda parvifolia Bartl. 百眼藤 **574**
Morinda umbellata L. 羊角藤 **574**
Morus alba L. 桑 **273,531**
Moschus berezovskii 林麝 **705**
Mussaenda pubescens Ait. f. 玉叶金花,毛玉叶金花,山甘草 **11,434**
Mycelia sterilia **769**
Mycoblastus sanguinarius (L.) **577**
Mylabris phalerata Pallas 大斑蝥 **767**
Mylabris sidae Fabr. 斑蝥 **192**
Myrica gale L. 香杨梅 **657**
Myriococcum albomyces **769**
Myrtus communis L. 香桃木 **180,653**
Mytilus edulis Galloprovincialis 蓝贝 **728**

N

Nardostachys chinensis Bata L. 甘松香 **205**
Nectandra coto Rusby 柯托树 **653**
Nectria coccinea (Per S.) Fr. **657**
Nectriara dicicola Gerlach et L. Nilsson. **657**
Nelumbo nucifera Gaerrtner 莲 **119**
Neosiphonia superstes **728,834**
Nerium indicum Mill 夹竹桃 **681**
Nitzschia pungens Grunow. 尖刺菱形藻 **834**
Nodularia spumigena **826**
Nosto clinckia (Roth) Born. et Flah. **830**
Nothapodytes foetida (Wight) Sleumer 臭味假柴龙树 **763**

O

Oceanapia phillipensis **730**
Ocotea bullata **640**
Ocotea porosa **640**
Oenanthe javanica (Bl.) D C. 芹 **530**
Olea europoea 洋橄榄 **189,齐墩果 425**
Onopordum illyricum L. 伊利尔大翅蓟 **643**
Oospora sulphurea-ochracea 类生卵孢菌 **655**
Ophioplocus januari **717**
Ophiopogon japonicus Ker-Gaw L. 沿阶草,麦冬 **442**
Ornithogalum saundersiae 虎眼万年青 **418**
Oscillatoria formosa Bory 美丽颤藻 **829**
Oscillatoria spongeliae (Schulze) Hauck **830,835**
Ostrinia furnacalis Guenee 亚洲玉米螟 **348**

P

Padina tetrastromatica Hauck 四迭团扇藻 **712**
Paederia scandens (Lour.) Merr. 鸡矢藤 **186**
Paeonia albiflora Pall. 芍药 **180**
Paeonia lactiflora Pall. 白芍 **180**
Panax ginseng C. A. Mayer 人参 **423,531**
Panax notoginseng (Burkill) F. H. Chen 三七 **423**
Panax quinquefolium L. 西洋参 **639**
Papaver smniferum L. 罂粟 **121,460**
Pararcyptera microptera Meridionalis (Lkonn.) 宽翅曲背蝗 **204**
Parchenocissus tricuspidata (Sieb et zucc) Planch 爬山虎 **460**
Paris polyphylla Smith 七叶一枝花 **437**
Parmelia pseudojatiscens **654**
Pectinophor gossypiella Saund 粉红螟蛉蛾 **293**
Peganum harmala L. 骆驼蓬 **152**
Penicillium brevi-compactum **657**
Penicillium estinogenum **655**
Penicillium simplicimum **263**
Penicillium stipitatum **656**
Pentacta australis **734**
Pentamera calcigera **734**
Peperomia glabella (Sw.) A. Dietr. **645**
Perilla nankinensis Decne. 紫苏 **166**
Periplameta americana 大蠊 **292**
Periploca sepium Bge. 杠柳 **693**
Perithalia caudata Hilfe **712**
Persea americana Mill. 鳄梨 **498**
Persea obovatifolia (Hay.) Kostermans 恒春槙楠 **644**
Pertusaria amara (Ach.) Nyl. 苦鸡皮衣 **655**
Petrosia similes **726**
Petunia integrifolia (Hook.) **7**
Peucedanum longshengense Shanet Sheh 南岭前胡 **593**
Peucedanum praeruptorum Dunn 白花前胡 **593**
Phaffia rhodozym **825**
Phakellia costata **730**
Phakellia fusca Schimidt 棕色扁海绵 **730**
Phellodendron amurense Rupr. 黄柏 **531**
Phenax angustifolius (Kunth) Wedd. **621**
Phyllanthus myrtifolius Moon. 锡蓝叶下珠 **625**
Phyllanthus niruri L. 珠子草 **617**
Phyllidiia epustulosa **202**
Phytolacca americana 美洲商陆 **641**
Phytolacca esculenta van Houtte 商陆 **419**
Pichia terricola **290**
Pimpinella anisum L. 茴芹 **4**
Pinicillum jensenii **206**
Pinus armandii Franch. 华山松 **180**
Pinus koraiensis SetZ. 红松 **180**
Pinus massoniana Lamb. 马尾松 **180**
Pinus palustris Miller 长叶松 **182**
Pinus yunnanensis Fr. 云南松 **180**
Piper cubeba L. 荜澄茄 **628**

Piper futo-kadsura Sieb.　海风藤　**638,652**
Piper hancei Maxim.　山蒟　**638**
Piper puberulum (Benth.) Maxim.　毛蒟　**640**
Piper sometum　**670**
Pistacia chinensis Bunge　黄连木　**595**
Plantago asiatica L.　车前　**188,530**
Plasmodium berghai　鼠疟原虫　**240.662**
Plasmodium falciparun　恶性疟原虫　**240**
Pleurospermum rivulorum (Diels) K. T. Fu et Y. C. Ho　心叶棱子芹,云南羌活　**604**
Plexaura homomala　柳珊瑚　**710**
Plusia ni　粉纹夜蛾　**297**
Podocarpus nakaii Hayata　台湾罗汉松,百日青　**273**
Podocarpus spicatus R. Br.　穗花罗汉松　**620**
Podophyllum peltatum L.　盾叶鬼臼　**624**
Podophyllum pleianthum Hance　八角莲　**624**
Podophyllum versipelle Hance　鬼臼　**624**
Polyalthia oliveri　**265**
Polyfibrospomia australis　**263**
Polygala fruticosa　**594**
Polygala tenuifolia Willd.　远志　**426**
Polygonum cuspidatum S. et Z.　虎杖　**576**
Polyneura latissima　**842**
Polysyncraton lithostrotum　斐济海鞘　**834**
Poncirus trifoliatea Raf.　枳,陈皮　**530**
Popilla japonica　日本弧　**295**
Porella acutifolia (Lehm. &Lindenb.) Trev.　**262**
Porella grandilob　**262**
Poria cocos (Schw.) Wolf　茯苓　**422,539**
Porthetria dispar　盗毒蛾　**295**
Premna oligotricha　**207**
Prunus armeniaca L.　苦杏仁　**701**
Psacalium decompositum　**207**
Psamma plysilla purpurea (Carter)　**726**
Pseudaulacaspis pentagona Targioni　桑白盾蚧　**298**
Pseudolarix kaempferi Gorden　土槿皮　**113**
Pseudomonas bromoutilis　**821**
Pseudomonas fluorescens　萤光假单胞菌　**822**
Pseudoptero gorgia　**711**
Psorospermum febrifugum　**579**
Ptilocaulis spiculifer　**727**
Ptilota filicina　**842**
Pueraria hirsuteauct non Schneider　葛根　**538**
Pulsatilla chinensis (Bge.) Reg.　白头翁　**426**
Punica granatum L.　石榴　**654**
Pycnoporus cocineu　**203**
Pyrenacantha klaineana Pierre　**763**
Pyrethrum cinerariaefolium Boc C.　除虫菊　**190**
Pyricularia oryzae　稻瘟霉　**719**
Pyrrhocoris apterus　无翅红椿　**204,288**
Pyrrosia lingua (Thunb.) Farw.　石韦　**534**

Q

Quassia indica (Gaertn.) Nooteboom.　苦木　**422**
Quillaia saponaria Molina　皂树　**419**
Quisqualis indica L.　使君子　**457**

R

Rabdosia excisa (Maxim.) Hara　尾叶香茶菜　**359**
Rabdosia japonica (Burm. f.) Hara　毛叶香茶菜　**352**
Rabdosia rubescens (Hemsl.) Hara　冬凌草　**351**
Rabdosia shikokiana (Makino) Hara　**352**
Raphanus sativus L.　萝卜　**700**
Rauwolfia chinensis Hemsl.　红果萝芙木　**152**
Rauwolfia serpentina L. Benth　萝芙木,蛇根草　**152**
Rauwolfia vomitoria Afzel. ex Spreng.　催吐萝芙木　**152**
Rauwolfia yunnanensis Tsiang　云南萝芙木　**152**
Rehmannia glutinpsa (Gaertn.) Libosch.　地黄　**188**
Rehmannia glutinosa (Gaertn.) Libosch. *var. purpurea* Makino　紫地黄　**501**
Reidispongia coerulea　**728**
Reticulidia fungia　**202**
Rhamnus purshiana D C.　鼠李　**531,575**
Rheum hotaoense C. Y. Cheng et C. T. Kao　河套大黄　**584**
Rheum moorcroftianum Royle　长穗大黄　**576**
Rheum officinale Baillon　大黄　**575**
Rheum palmatum L.　掌叶大黄　**677,574**
Rheum rhaponticum L.　土大黄　**655**
Rhinacanthus nasutus (L.) Kurz　白鹤灵芝　**617**
Rhizoplaca chrysoleuca (Sm.) Zopf.　**668**
Rhodea japonica Roth　万年青　**695**
Rhododendron arboreum Smithf. Roseum Swe et　红花杜鹃　**530**
Rhododendron mariae Hance　紫花杜鹃　**530**
Rhododendron mariesii Hemsl. et Wil S.　满山红　**531**
Rhodomyrtus macrocarpa Benth.　**667**
Rhus vernicifera Stokes　漆树　**652**
Rhynchotechum vestitum Hook. f. et . Thom S.　毛线柱苣苔　**582**
Ritterella tokioka　**773**
Roccella tinctoria D C.　染料衣　**655**
Roripa montana Small　蔊菜,江剪刀草　**699**
Rosa rugosa Thunb.　玫瑰　**259**
Rubia cordifolia L.　茜草　**574**
Rubia tinctorum L.　西洋茜草　**574,燃料茜草 576**
Rumex crispus L.　皱叶酸模　**575**
Rumex dentatus L.　齿果酸模　**575**
Rumex patientia L.　巴天酸模　**575**

S

Saccharomyces cerevisiae 出芽酵母 **826**,酿酒酵母 **726**
Salsola richteri Karelin 鹿尾草 **119**
Salvia miltiorrhiza Bunge 丹参 **330**,**639**,**677**
Salvia plebeian R. Br. 荔枝草 **530**
Salvia yunnanensis C. H. Wright 云南丹参 **642**,云南鼠尾草 **679**
Sargassum autumnale **714**
Sargassum carpophyllum 褐藻叶托马尾藻 **718**
Saururus chinensis (Lour.) Baill. 三白草 **645**
Saussurea japonica (Thunb.) D C. 风毛菊 **720**
Saussurea laniceps Hand. Mazz. 雪莲 **567**
Saussurea lappa Clarke 云木香 **207**
Schefferomitra subaequalis **670**
Schisandra chinensis(Turcz.) Baill. 五味子 **756**
Schisandra rubriflora (Franch.) Rehd. et Wil S. 红花五味子 **617**
Schisandra sphenanthera Rehd. et Wil S. 华中五味子 **617**
Scilla maritima 海葱 **681**
Scirpus fluviatilis (Torr.) A. Gray 荆三棱 **704**
Scogogramma trifoli 旋幽夜蛾 **297**
Scoparia dulcis L. 野甘草 **567**
Scopolia tangutica Maxim. 唐古特莨菪 **1**,**141**
Scrophularia ningpoensis Hemsl. 玄参 **188**
Scutellaria baicalensis Georgi 黄芩 **550**
Securinega suffruticosa (Pall.) Rehd. 一叶萩 **136**
Sedumsarmentosum Bge. 垂盆草 **16**,**701**
Senecio platyphyllus D C. 阔叶千里光 **135**
Sepedonium chrysospermum 黄瘤孢 **656**
Shewanella putrefaciens 腐败希瓦菌 **824**
Siliquariaspongia japonica **730**
Silybum marianum Gaertn. 水飞蓟 **531**
Sinapis alba L. 白芥 **657**
Sinomenium acutum Rehder et Wison 防己,青藤 **115**
Sinopodophyllum emodi (Wall. et Royle) Ying 桃儿七 **624**
Skimmia reevesiana Fort. 茵芋 **127**
Solanum aculeatissimum Jacq. 颠茄 **444**
Solidago decurrens Lour. 一枝黄花 **659**
Sophora flavescens Ait. 苦参 **532**
Sophora japonica L. 槐 **530**
Spirastrella abata **730**
Spodoptera frugiperda (Smith) 草地夜蛾 **297**
Spongia matamata **727**
Sporochnus bolleanus Mont. **712**
Squalus acanthias 白斑角鲨 **711**
Stachybotrys allernans **264**
Stachybotrys kampalensis Hansf. **264**
Stellaria delavayi Fr. 青葙子,大叶繁缕 **98**
Stellaria yunnanensis Franch. 云南繁缕 **92**
Stellera chamaejasme L. 瑞香狼毒 **595**
Stemona japonica Miq. 蔓生百部 **143**
Stemona mairei (Lévl.) Krause 狭叶百部 **149**
Stemona parviflora C. H. Wright 细花百部 **143**
Stemona sessilifolia (Miq.) Miq. 直立百部 **143**
Stemona tuberose Lour 对叶百部 **143**
Stephania cepharantha Hayata 金线吊乌龟 **670**
Stereocaulon paschale Hoffm. 东方珊瑚树 **655**
Stevia rebaudiana (Bert.) Bert. 甜叶菊 **352**
Stichopus chloronotus Brandt 绿刺参 **723**
Stichopus japonicus Selenka 刺参 **723**
Stichopus var. iegatus Semper. 花刺参 **723**
Stoechospermum marginatum (C. Ag.) Ku et z. 边缘列子藻 **713**
Strepsichordaia lendenfeldi **727**
Streptomyces chartreasis 教酒链霉菌 **458**
Streptomyces erythrochromogenes 红色产色链霉菌 **458**
Streptomyces jinggangmycin 井冈链霉菌 **92**
Streptomyces qingfengmycin 庆丰链霉菌 **92**
Streptomyces roseovirido Fuscusn. sp. 玫瑰绿褐链霉菌新种 **458**
Streptomyces speucetins 放线菌 **573**
Streptomyces speucetium var. caesius streptomyce **578**
Striga lutea L. 独脚金 **203**
Strophanthus divaricotus (Lour.) Hook. et Arn. 羊角拗 **692**
Strophanthus kombe Oliv. 康毗毒毛旋花,绿毒毛旋花 **835**

T

Tanacetum parthenium (L.) Sch. Bip. 短舌匹菊 **260**
Taonia atomaria 微点雀尾藻 **713**
Taxus baccata 欧洲紫杉 **617**
Taxus brevifolia Nutt. 短叶红豆杉 **306**,短叶紫杉 **645**
Tectona grandis L. fil 柚木 **573**
Tednmia anhelans **449**
Terminalia bellirica (Gaertn.) Roxb. 毗黎勒 **617**
Teucrium chamaedrys 石蚕香科 **346**
Teucrium japonicum Willd. 穗花香科 **346**
Teucrium pernyi Franch. 庐山香科 **346**
Thalassiosira weissflogii 威氏海链藻 **716**
Thalictrum faberi Ulbr 大叶唐松草 **125**
Thapsia garganica L. 毒胡罗卜 **205**
Thelenota ananas Jaeger 梅花参 **733**
Theonella mirabilis **728**
Theonella swinhoei **728**,**826**,**834**
Thevetia peruviana Merr. 黄花夹竹桃 **694**
Tithonia tagiliflora 肿柄菊 **210**
Tolypocladium inflatum **463**

Torillis japonica (Houtt.) D C. 窃衣 **179**
Trachelospermum axillare Hook. f. 紫花络石 **620**
Tricho dermapolysporum 多孔木霉霉菌,木霉多孢菌 **769,463**
Tricho santhescucumeroides (Ser.) Maxim. 王瓜 **466**
Tricho santheskirilowii Maxim 栝楼,天花粉 **467**
Trididemnum solidum 海鞘 **711**
Tripterygium wilfordii Hook 雷公藤 **322**
Trogoderma inclusum Le Conte 肾斑皮蠹 **295**
Trogoderma var. iable Ballion 花斑皮蠹 **295**

U

Ulva lactuca 绿藻孔石莼 **716**
Uragoga ipecacuanha Baill. 吐根 **120**
Ursinia ecklioniana **259**
Usnea barbata 须松萝 **653**
Uvaria microcarpa Champ. 紫玉盘 **567**

V

Valeriana officinalis L. 缬草 **181**
Valeriana wallichii D C. 瓦利缬草 **186**
Veratrum album L. 藜芦 **655**
Verbascum sinaiticum Bentham. **645**
Verbascum sinuatum L. **501**
Vernonia fastigiata Oliv. Ex Hiern **212**
Veronica anagallis-aquatica L. 水苦买 **261**
Verticillium lamellicola **653**
Vibeura wabuki **260**
Viburnum dilatatum Thunb. 荚蒾 **651**
Vinca minor L. 小长春花 **156**
Vinca rosea L. 长春花 **156,765**
Virolae longate **655**
Vitis vinifera 葡萄 **2,704**

W

Wachendorfia paniculata L. **674**
Wikstroemia indica (L.) C. A. Mey. 了哥王 **530**

X

Xanthium pungens **260**
Xanthium strumarium auct. sinnon L. 苍耳 **262**
Xanthoria parietina (L.) Belt 石横衣 **655**
Xerocomus badius (Fr.) Kuhn. **654**
Xestospongia festudinari **725**
Xiphidium caeruleum **654**
Xylopia aromatica (Lam.) Mart. **262**

Z

Zanthoxylum ailanthoides Sieb. et Zuc C. 椿叶花椒 **614**
Zanthoxylum bungeanum Maxim. 花椒 **166**
Zanthoxylum dimorphophyllum Hemsl. *var. spinifolium* Rehd. et Wils 刺异叶花椒 **603**
Zanthoxylum nitidum (Roxb.) D C. 两面针 **567**
Zingiber aromaticum Val. **207**
Zingiber jerumbet **207**
Zingiber officinale Ros C. 姜 **13,166,652**
Zizyphus spina-christi (L.) Willd. 叙利亚枣 **21**
Zizyphus spinosus Hu 酸枣 **423**