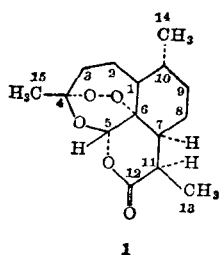


青蒿素的二维核磁共振研究

黄敬坚* Nicholls, K. M.** 陈朝环 汪 猷

(中国科学院上海有机化学研究所, 上海)

青蒿素(**1**)是由我国民间草药青蒿中提取出的含有过氧基团的新型倍半萜内酯^[1], 具有突出的抗疟作用^[2]. 它的结构系由我国科学家测定的^[3,4], 它的化学全合成也已同时独立地由我国^[5]和瑞士^[6]化学家完成. 为了解自然界合成这类物质的途径, 并作为仿生合成的借鉴, 我们开展了它的生物合成的研究. 近十多年来 ^{13}C NMR 技术的发展促进了稳定同位素 ^{13}C 在生物合成研究中的应用. 本文报告我们采用二维核磁共振技术研究青蒿素 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 谱线归属的结果, 这将为以后 ^{13}C 中间体的生物转化产物提供鉴定的基础.



在青蒿素结构的研究中, 刘静明等^[4]曾初步讨论了它的 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 谱. 随后王保德等^[7]通过选择性去偶和 PRFT 等方法推断了青蒿素及其类似物 ^{13}C NMR 的谱线归属. 青蒿素脂环上亚甲基和次甲基的质子峰多集中在 1.1—2.1 ppm 范围内, 又是强自旋体系, 青蒿素 7 个碳峰靠得亦较近, 尤其两个仲碳峰相隔只 1.46 ppm, 若采用一般方法较难指定这些谱峰的归属. 近年来发展的 ^1H — ^1H 同核和 ^1H — ^{13}C 异核核磁共振化学位移相关谱(简称同核和异核相关谱)却正是解决复杂谱峰归属的有效方法^[8,9]. 我们在核磁共振一般技术如 APT(attached proton test), 同核质子去偶和异核质子选择性去偶等的基础上, 再进行了同核相关谱和异核相关谱(图 1)的研究, 联合利用这些结果指定了青蒿素 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 各谱线的归属(表 1). 现按碳氢原子的类型分述如下:

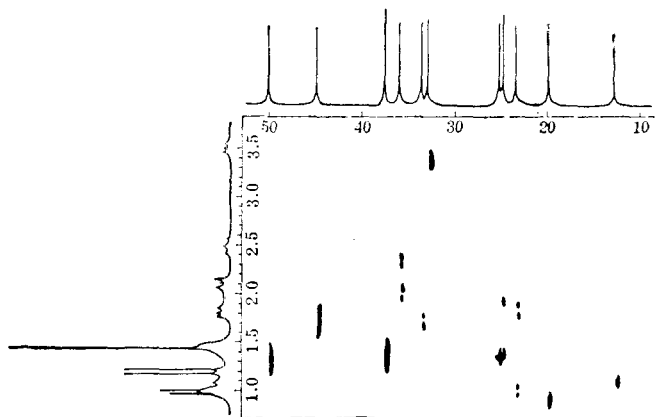


图 1 青蒿素的 ^1H — ^{13}C 异核核磁共振化学位移相关谱

季碳原子 青蒿素的 3 个季碳原子峰(79.52、105.41 和 172.07)较易识别; 172.07 峰归属于内酯羰基的 12-C; 105.41 峰与 79.52 峰相比处于较低场, 因而归属于连接有 2 个氧原子的 4-C; 而后者则应属于只连接有 1 个氧原子的 6-C.

甲基基团 青蒿素 3 个甲基的质子峰为 1.00(d), 1.21(d) 和 1.44(s). 1.44 单峰为

1985 年 10 月 9 日收到. 黄敬坚同志于 1986 年去世. 吴莲芬同志参加部分工作.

** 由中国科学院与英国皇家学会 1984—1985 年科技交流协议来中国科学院上海有机化学研究所工作. 现在通讯地址: Hoober Road, Sheffield S11 9SF, England.

表 1 青蒿素的 ^{13}C 和 ^1H 化学位移

^{13}C				^1H	^{13}C				^1H
$\delta(\text{ppm})$	裂分	APT*	归属	$\delta(\text{ppm})$	$\delta(\text{ppm})$	裂分	APT*	归属	$\delta(\text{ppm})$
12.60	q	CH_3	13	1.21(d)	37.56	d	CH	10	1.43
19.87	q	CH_3	14	1.00(d)	44.99	d	CH	7	1.84
23.43	t	CH_2	8	1.10, 1.91	50.08	d	CH	1	1.41
24.89	t	CH_2	2	1.45, 2.02	79.52	s	C	6	—
25.24	q	CH_3	15	1.44(s)	93.74	d	CH	5	5.86(s)
32.93	d	CH	11	3.39(d-q)	105.41	s	C	4	—
33.63	t	CH_2	9	1.76, 1.80	172.07	s	C	12	—
35.94	t	CH_2	3	2.09, 2.42					

* 由 APT 实验获得的结果。

15-H; 1.21 双峰因经 11-H 去偶而成单峰应归属于 13-H^[4]; 余下的 1.00 双峰则应为 14-H。根据质子的化学位移, 通过异核相关谱则可确定 12.60、19.87 和 25.24 峰分别归属于 13-C, 14-C 和 15-C。

次甲基基团 青蒿素有 5 个叔碳原子峰, 5-C 连接有 2 个氧原子, 其峰应是叔碳中的最低场 93.74, 5-H 亦应是最低场的 5.86 单峰。11-H 为内酯的 H_a , 应位于低场 3.39 处。从异核相关谱中可以确定 11-C 峰为 32.93。

在 11-H 的去偶实验中, 除了 13-H 去偶而成单峰外, 在 1.84 处有明显的增强。反之, 当照射 1.84 位置时, 11-H 则从 2 个 4 重峰去偶而成 1 个 4 重峰。这表明 7-H 峰应在 1.84 位置。从异核相关谱中可以看到与 7-H 峰可能相关的有 3 个碳峰, 但其中只有 44.99 峰是叔碳原子, 则其应归属于 7-C。

从同核相关谱的 14-H 横剖面可以看到 1 个 1.43 相关峰, 这应是 10-H。当我们照射这 1.43 时, 14-H 则去偶而成细高的单峰; 如照射 15-H 的 1.44 峰时, 由于其接近 1.43 也能使 14-H 去偶, 但去偶的程度不如 1.43 峰而使 14-H 为粗矮的单峰。如照射 1.45 处, 14-H 去偶程度更差而为更粗矮的单峰。结果也说明了 10-H 峰是在 15-H 的稍高场, 而不同于文献报道的 15-H 稍低场的结果^[7]。在 10-H 的选择性去偶中, 除出现了伯碳 15-C 强峰外, 还出现了一个叔碳 37.56 强峰和另一个叔碳 50.08 弱峰, 37.56 强峰应当归属于 10-C, 至于 50.08 弱峰就只能归属于 1-C。在 14-H 的选择性去偶中, 出现了 14-C 强峰, 1-C 次强峰和 10-C 弱峰, 这说明 1-H 峰的位置与 10-H 峰的相比, 更靠近 14-H 峰即 1-H 峰是在 10-H 峰的更高场。从异核相关谱中亦可看到 10-H 峰位置和 15-H 的相近, 而 1-H 峰与 10-H 的相比, 处于稍高场。再从 1-C 的横剖面则可测得 1-H 峰为 1.41。1-C 峰与 10-C 峰相比处于较低场, 这与 1-甲基十氢萘中环结合点的碳原子具有较低场的共振峰^[10]相吻合。

亚甲基基团 在 7-H 的去偶实验中, 除了观察到 11-H 去偶外, 在高场 1.10 处还出现了明显的增强峰, 这最可能来自 8-H。从同核相关谱的 1.10 峰横剖面可以看到与它相关的另一个 8-H 峰是 1.91。异核相关谱中与这两个 8-H 峰相关的正好有一个 23.43 仲碳峰, 则其应归属于 8-C。

8-H 1.10 峰的去偶实验中, 在 1.7—2.0 ppm 区域的谱形有了明显的变化, 从一个复杂的多重峰变成 1.76—1.80 和 1.84—1.91 的两组多重峰, 尤其高场组峰增强更多。前面已阐明 7-H 和另一个 8-H 峰是在低场组峰位置, 则高场组峰应归属于两个 9-H。异核相关谱中与这高场组峰相关的只有一个 33.63 仲碳峰, 故其应归属于 9-C。

1-H 的去偶实验中,除了看到因 1-H 邻近 10-H 而引起的 14-H 去偶外,在 2.02 处还出现了增强峰,这是来自 2-H。它的同核相关谱横剖面有一个强的与 15-H 相近的 1.45 相关峰,应是另一个 2-H。异核相关谱中可以看到与这两个 2-H 相关的正好有一个 24.89 仲碳峰,这峰则应是 2-C。

余下的 2.09 和 2.42 两个质子峰只能来自 3-H。异核相关谱中恰好有一个 35.94 仲碳峰与这两个 3-H 峰相关,则其应归属于 3-C。

从同核相关谱中可以看到 2.02、2.09 和 2.42 三个质子峰是明显相关的,这与它们分别为 2-H、3-H 和 3-H 是吻合的。再根据青蒿素的结构,其四个仲碳原子中,只有 3-C 连接有带两个氧原子的碳原子,因而这 3-C 和 3-H 峰与其他三者的相比都应处于低场,上述结果也与这个推论相吻合。

实 验

青蒿素系云南昆明制药厂产品,经乙醇重结晶。

^1H 和 ^{13}C NMR 化学位移采用 Varian XL-200 型仪测定,溶剂 CDCl_3 , 内标 TMS。 ^1H NMR 频率 200 MHz, 5 mm 外径玻璃管。 ^{13}C NMR 频率 50.3 MHz, 10 mm 外径玻璃管。 δ 值为 ppm。

^1H - ^1H 同核相关谱: $\text{SW}_1 = \text{SW}_2 = 600$ Hz, 数据点 1024×1024 , 累加 16 次, t_1 增量 256, 数字分辨率分别为 1.172 和 0.427 Hz, SW_2 没有用窗函数。

^1H - ^{13}C 异核相关谱: ^{13}C 谱宽 (SW_1) 2264.8 Hz, ^1H 谱宽 (SW_2) 600 Hz, 数据点 2048×512 , 累加 256 次, t_1 增量 128, SW_1 和 SW_2 的数字分辨率分别为 2.214 和 4.688 Hz。

本工作接受中国科学院和英国皇家学会的资助,特此致谢。

参 考 文 献

- [1] Fischer, N. H.; Livier, E. J.; Fischer, H. D., "Progress in the chemistry of Organic Natural Products", 1979, 38, 275.
- [2] Qinghaosu Antimalaria Coordinating Research Group, *Chinese Medical Journal*, 1979, 92, 811.
- [3] 青蒿素结构研究协作组, 科学通报, 1977, 22, 142.
- [4] 刘静明, 倪慕云, 樊菊芬, 屠呦呦, 吴照华, 吴毓林, 周维善, 化学学报, 1979, 37, 129.
- [5] 许杏祥, 朱 杰, 黄大中, 周维善, 化学学报, 1983, 41, 574; 1984, 42, 940.
- [6] Schmid, G.; Hofheinz, W., *J. Am. Chem. Soc.*, 1983, 105, 624.
- [7] 王保德, 殷梦龙, 宋国强, 陈仲良, 赵天增, 汪茂田, 胡大蓬, 上海市化学化工学会论文汇编, 1983.
- [8] Bigler, P.; Ammann, W. R., *Org. Magn. Reson.*, 1984, 22, 109.
- [9] Joseph-Nathan, P.; Martinez, E.; Santillan, R. L.; Wesener, J. R.; Güntner, H., *Org. Magn. Reson.*, 1984, 22, 308.
- [10] Dalling, D. K.; Grant, D. M.; Paul, E. G., *J. Am. Chem. Soc.*, 1973, 95, 3718.

Two-Dimensional NMR Studies of Arteannuin

Huang Jing-Jian* Nicholls, K. M. Cheng Chao-Huan Wang Yu

(Institute of Organic Chemistry, Academia Sinica, Shanghai)

Abstract

The detailed assignment of both the ^1H and ^{13}C NMR spectra of arteannuin has been made by combined utilization of techniques of two-dimensional ^1H - ^1H homonuclear and ^1H - ^{13}C heteronuclear NMR chemical shift correlations, APT, homonuclear ^1H decoupling and heteronuclear H selective decoupling.