

肉芝软珊瑚属中二聚西松烷型二萜化合物的化学和生物活性研究进展

李玉芬^{a,b} 梁林富^a 萧伟^c 梁敬钰^b 郭跃伟^{*,a}^(a) 中国科学院上海药物研究所国家新药研究重点实验室 上海 201203)^(b) 中国药科大学天然药物化学教研室 南京 210009)^(c) 江苏康缘药业股份有限公司 连云港 222001)

摘要 二聚西松烷型二萜(biscembranoid)是一类骨架新颖、结构复杂、罕见的海洋天然产物, 主要存在于肉芝软珊瑚属珊瑚生物中。这类化合物多具有显著的生物活性, 尤其表现为抗炎、抗肿瘤等。对近年来报道的肉芝软珊瑚属中的二聚西松烷型二萜化合物的化学及生物活性进行综述, 并对其药用前景作出展望。

关键词 肉芝软珊瑚; 二聚西松烷型二萜; 结构; 生物活性

Progress in the Study of Biscembranoides from the Soft Corals of the Genus *Sarcophyton*Li, Yufen^{a,b} Liang, Linfu^a Xiao, Wei^c Liang, Jingyu^b Guo, Yuewei^{*,a}^(a) State Key Laboratory of Drug Research, Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201203)^(b) Department of Natural Medicinal Chemistry, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009)^(c) Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co., Ltd., Lianyungang 222001)

Abstract Biscembranoides, a kind of novel and complex compounds, mainly exist in the soft corals of the genus *sarcophyton* exhibiting good biological activities in drug discovery, especially for the activities of anti-inflammatory, antitumor, etc. In this review, we focus on the progress in chemical and bioactive research of biscembranoides in recent years and their prospectations in the future.

Keywords *Sarcophyton*; biscembranoid; structure; bioactivity

软珊瑚属于腔肠动物门(Coelenterata)、珊瑚虫纲(Anthozoa)、八放珊瑚亚纲(Octocorallia)、软珊瑚目(Alcyonacea)的海洋低等无脊椎动物, 目前已报道的有1000多种。这类海洋生物从潮间带到深达千米的海洋、亚热带到两极的海域均可以生存。其中, 我国辽阔的海域中分布着500多种软珊瑚^[1]。

软珊瑚的生长环境艰难恶劣, 表现为高压、高盐、缺氧, 整体海洋环境较封闭, 而且密集分布着众多致病性微生物和捕食者。在残酷的生存考验下, 软珊瑚产生了具有强大的抵御外界捕食作用的次生代谢产物。近年来, 科学家从软珊瑚中发现了众多药理活性显著的次生

代谢产物。这些药理活性尤其表现为抗菌、抗炎、抗肿瘤等。这些次生代谢产物在软珊瑚的自我防御体系中也发挥着重要作用, 如虾毒活性。软珊瑚中的次生代谢产物具有独特的结构、强大的自我防御功能和显著的药用价值, 因此越来越引起化学家和药理学家的高度重视, 对软珊瑚的化学和药理学研究多年来一直是海洋天然产物的研究热点。

软珊瑚在生物学角度分为6个科, 分别为拟软珊瑚科(Paralcyoniidae)、软珊瑚科(Alcyoniidae)、星针软珊瑚科(Asterospiculariidae)、棘软珊瑚科(Nephtheidae)、锦花软珊瑚科(Nidallidae)和异花软珊瑚科(Xeniidae)。目前,

* E-mail: ywguo@mail.shnc.ac.cn

Received April 25, 2013; revised June 9, 2013; published online June 9, 2013.

Project supported by the National Marine "863" Project (Nos. 2011AA09070102, 2013AA092902), the Natural Science Foundation of China (Nos. 81273430, 21072204, 21021063), the Projects of State Key Laboratory of Drug Research, Shanghai Institute of Materia Medica (Nos. SIMM1203ZZ-03, SIMM1105KF-04), and the EU 7th Framework Program-IRSES (International Research Staff Exchange Scheme) Project (2010~2014).

国家海洋"863"计划(Nos. 2011AA09070102, 2013AA092902)、国家自然科学基金(Nos. 81273430, 21072204, 21021063)、中国科学院国家新药研究重点实验室项目(No. SIMM1203ZZ-03, SIMM1105KF-04)、欧盟第七框架 IRSES (2010~2014)资助项目。

科学家对软珊瑚中有关化学成分和相关生物活性研究主要集中在软珊瑚科(Alcyoniidae)中的短指软珊瑚(*Sinularia*)、豆莢软珊瑚(*Lobophytum*)、柔荑软珊瑚(*Nephthea*)、肉芝软珊瑚(*Sarcophyton*)及异花软珊瑚(*Xenia*) 5个属。

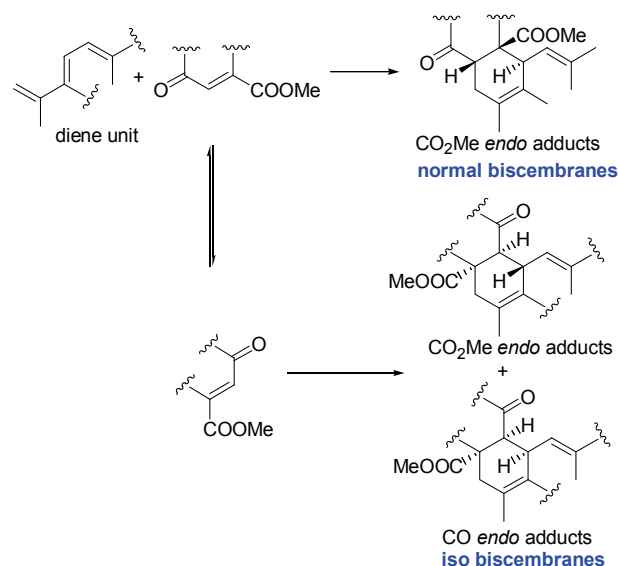
在生物分类学上,肉芝软珊瑚属(*Sarcophyton*)动物属于腔肠动物门(Coelenterata)、珊瑚虫纲(Anthozoa)、八放珊瑚亚纲(Octocorallia)、软珊瑚目(Alcyonacea)、软珊瑚科(Alcyoniidae)。肉芝软珊瑚属中珊瑚种类多样、分布广泛。高度氧化的西松烷型二萜和甾体是该属珊瑚中主要的次生代谢产物^[2,3]。西松烷型二萜的结构特点是在十四元环上有一个异丙基和三个甲基取代,结构变化主要是双键的位移、环氧化、烯丙位和异丙基的氧化及碳环化等。除西松烷型二萜和甾体外,科学家还从中发现了结构非常奇特的二聚西松烷型二萜。这类化合物多含有内酯环或环氧环,是肉芝软珊瑚属珊瑚的主要特征性次生代谢产物^[3~24]。二聚西松烷型二萜不但具有抵御外界侵略(捕食)的能力,而且多显示显著的生物活性,如抗肿瘤、抗炎等^[4~24]。

1986年中山大学苏镜娱等^[4]从中国南海肉芝软珊瑚 *Sarcophyton tortuosum* 中分离得到 methyl sartortuoate (1), methyl sartortuoate 的发现标志着肉芝软珊瑚属珊瑚中二聚西松烷型二萜研究的开始。在此后的 20 多年里,此类化合物因其新颖的结构和显著的生物活性成为天然产物化学研究的热点之一。随着高效液相色谱、二维核磁共振和质谱电离技术的迅猛发展和运用,1986年至2013年,国内外学者已报道了37个该属珊瑚中发现的二聚西松烷型二萜类化合物。这类化合物集中分布在 *Sarcophyton glaucum*, *Sarcophyton elegans*, *S. tortuosum*, *Sarcophyton latum* 4种肉芝软珊瑚种内^[2,3]。本文就肉芝软珊瑚属珊瑚中二聚西松烷型二萜化合物的化学及其生物活性研究进展进行综述。

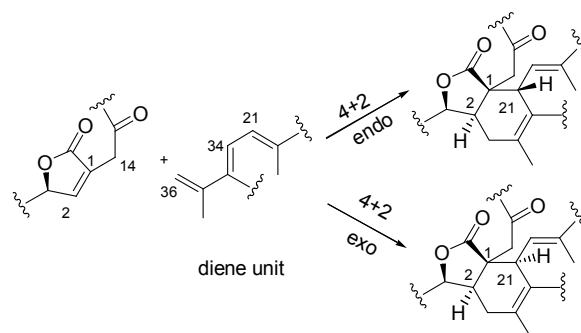
除 sinulochmodin A 由两分子西松烷二萜通过光自由基反应形成外,肉芝软珊瑚属珊瑚中的其它二聚西松烷型二萜均由两分子二萜通过 Diels-Alder 反应聚合而成。两个反应片段分别为西松烷二萜的 α,β -不饱和羧基的共轭碳双键和三取代的顺式二烯体。理论上,Diels-Alder 反应共有4种加成方式,目前已报道3种 Diels-Alder 反应加成所得的该类产品。二聚西松烷型二萜化合物多含有天然存在的甲酯基,由于含有甲酯基的化合物可在乙醇、丙酮、二氯甲烷及乙酸乙酯提取浸膏分离得到,可排除提取分离过程中试剂的影响,故含有甲酯基的该类产品是天然产物。

迄今为止,肉芝软珊瑚属珊瑚中共发现3种 Diels-Alder 环加成方式形成二聚西松烷型二萜:三取代

的 $\Delta^{21(34)}/\Delta^{35(36)}$ 作为双烯体与亲双烯体 $\Delta^{1(14)}$ 及反式 $\Delta^{14(1)}/\Delta^{1(2)}$ 环加成反应^[8]。Diels-Alder 反应前体共有2类:一种以西松烷型二萜 methyl sartortuoate 为代表,共有三种 Diels-Alder 环加成产物:三取代的 $\Delta^{21(34)}/\Delta^{35(36)}$ 作为双烯体与亲双烯体 α,β -不饱和 $\Delta^{1(14)}$ 及反式 $\Delta^{14(1)}/\Delta^{1(2)}$ 环加成反应^[8](Scheme 1)。其中 $\Delta^{1(2)}$ 由于长共轭系统而活性增强作为亲双烯体,CH₃-38 和 CH₂-33 的空间位阻使 $\Delta^{21(34)}/\Delta^{22(23)}$ 不存在 *cis* 构型,因此 $\Delta^{21(34)}/\Delta^{22(23)}$ 不能作为双烯体。Diels-Alder 环加成反应更倾向于生成 CO₂Me *endo* 产物而非 CO *endo* 产物,一方面由于 CO₂Me *endo* 产物中两个大环在异侧为优势产物。另一方面由于形成 CO *endo* 产物的两个二萜在反应过程中存在很大的空间位阻^[9]。另一种反应前体以 Bisglaucumlide 为代表, α,β -不饱和 γ -丁基内酯的 $\Delta^{1(2)}$ 与三取代的 $\Delta^{21(34)}/\Delta^{35(36)}$ 发生环加成反应(Scheme 2),有内型和外型两种加成产物,其中内型产物为优势产物。



Scheme 1



Scheme 2

肉芝软珊瑚属珊瑚中发现的二聚西松烷型二萜按其结构特点可划分为三种骨架:第一种骨架以 methyl

sartortuoate (**1**), ximaolides A~G (**25**~**31**)为代表, 简称为 Ximaolide 骨架. 第二种骨架以 Bisglaucumlides I~K (**17**~**19**)为代表, 简称为 Bisglaucumlide 骨架. 第三种骨架以 Bislatulmides A~F (**32**~**37**)为代表, 简称为 Bislatulmide 骨架. 这类化合物的绝对构型研究一直是天然产物研究的热点和难点. 目前, ECCD, X 射线单晶衍射、ECD/TDDFT 等方法可以确定该类化合物的绝对构型. 但是 ECCD 方法应用条件比较苛刻及 X 射线单晶衍射中高难度晶体培养致使这两种方法很难得到普遍应用. 由于 ECD/TDDFT 技术操作较为简便, 它已成为二聚西松烷型二萜的绝对构型研究中新的且适用性较广的方法. 我们小组已经成功的运用此方法解决了该类化合物的绝对构型.

二聚西松烷型二萜不但结构新颖独特, 而且一些化合物显示出显著的生物活性, 尤其抗肿瘤生物活性. 本文就肉芝软珊瑚属中报道的此类化合物的化学和生物活性分别进行论述. 近年来报道的新化合物 **1**~**37** 的来源、研究者、采集地点和参考文献列于表 1, 各个化合物的命名、结构式、旋光度等理化性质列于表 2.

表 1 肉芝软珊瑚属珊瑚中报道的二聚西松烷型二萜(1986 年至 2013 年)

Table 1 Biscembranoides from the soft coral species of *Sarcophyton* genus (1986~2013)

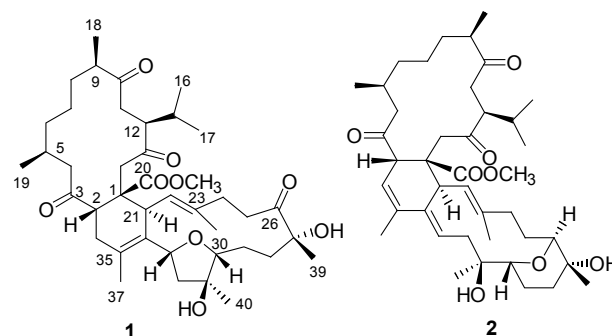
种名	采集地	分到化合物	研究者	参考文献
	中国南海	1, 2	苏镜娉等	[4, 5]
	中国南海	7, 8, 9	曾陇梅等	[12, 13]
	中国南海	10~16	郭跃伟等	[6, 7, 14, 15]
	中国南海	17	李厚金等	[17]
<i>S. tortuosum</i>	澳大利亚顿斯维尔岛屿	20	Browden 等	[20]
	肯尼亚	3	Kashman 等	[10]
	日本冲绳岛	18, 19	Kakisawa 等	[18, 19]
<i>S. glaucum</i>	日本奄美大岛	21~31	Iwagawa 等	[21, 22]
<i>S. latum</i>	中国南海	32~37	郭跃伟等	[8, 23]
<i>S. elegans</i>	肯尼亚	3~6	Kashman 等	[11]

1 Ximaolide 骨架

Ximaolide 骨架是肉芝软珊瑚属中发现的数目最多, 最为典型的二聚西松烷型二萜类化合物. 在化学结构上, 这类骨架的化合物含有三个大环, A 环、C 环为 2 个西松烷二萜环, B 环是由西松烷二萜中三取代的 $\Delta^{21(34)}/\Delta^{35(36)}$ 作为双烯体与亲双烯体 $\Delta^{1(2)}$ 通过 Diels-Alder 环加成反应形成. A 环与 B 环多为 *cis* 联合, 化合物 COOMe-1 是天然存在的基团. 这类化合物除 ximaolide D 外均具有相对构型相同的 A 环, 而且 A 环与 B 环的

结构多相同, 表现为 C-1, C-2, C-5, C-9, C-12 及 C-21 的手性中心有相同的构型. C 环差别较大, 多含有羟基或氧环, 包括三元环氧、五元环氧、六元环氧, 极个别化合物还含有氯元素, 这些基团可能是化合物具有显著生物活性的基础. 这类化合物由于缺乏长的共轭系统, 在 220 nm 以上的波段没有明显的紫外吸收.

1986 年, 苏镜娉等从中国南海肉芝软珊瑚 *S. tortuosum* 中首次分离到 2 个具有双十四元大环骨架的二聚西松烷型二萜化合物 methyl sartortuoate (**1**) 和 methyl isosartortuoate (**2**) (Scheme 3). 由于此类化合物结构复杂, 立体结构的确定有很大难度, 该小组与美国科学家合作, 用 X 射线单晶衍射方法分别确定了 methyl sartortuoate (**1**) 和 methyl isosartortuoate (**2**) 的绝对构型和相对构型^[4,5]. 有趣的是, 20 年后, 我们小组从同种软珊瑚中也分离到这两个化合物. 我们利用 X 射线单晶衍射 (Cu 靶) 方法纠正了化合物 **1** 的绝对构型, 确定了化合物 **2** 的绝对构型^[6]. 尤为重要的是, 我们小组利用 MS, 1D, 2D NMR, X 射线单晶衍射及 ECD/TDDFT 等方法成功的确定了该类化合物的绝对构型. 这为二聚西松烷型二萜的化学结构研究提供了重大的参考意义^[7].



Scheme 3

Kashman 小组从肯尼亚珊瑚 *S. glaucum* 和 *S. elegans* 中的 EtOAc 提取液中分离得到 nyalolide (**3**), 化合物 **3** 的结构由 MS, 1D, 2D NMR 共同确定. C-1,2 和 C-21 手性中心构型由生源合成途径得出, CO₂Me-1 和 H-2 的 NOE 效应确证了其 *cis* 构象, H-21 与 CH₃-38 有 NOE 效应及 CH₃-38 与 H-22 无 NOE 效应确定了 22*E*. 该小组在石油醚/丙酮的混合溶剂中得到了 nyalolide (**3**) 的单晶, 利用 X 射线单晶衍射结合波谱学数据确定了该化合物中 11 个手性中心的相对构型^[10]. 该小组后从同一海域的另一肉芝软珊瑚 *S. elegans* 中, 除化合物 **3** 外又得到 3 个新的二聚西松烷型二萜 desacetylnyalolide (**4**), diepoxynyalolide (**5**), dioxanyalolide (**6**) (Scheme 4)^[11]. 在化学结构上, 化合物 **3, 4** 存在四氢吡喃环, 化合物 **5** 存在两三元环氧环. 波谱数据最明显的差别是: C-26, C-27, C-30, C-31 的碳化学位移均明显向高场移动, 环

表2 肉芝软珊瑚属中分到的二聚西松烷型二萜的理化性质(1986年至2013年)

Table 2 Physicochemical properties of biscembranoides from the soft coral species of *Sarcophyton* genus (1986~2013)

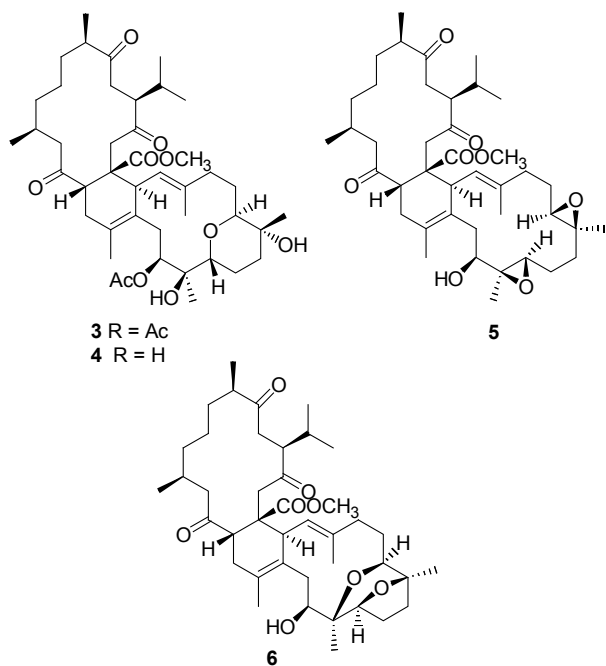
Compd.	Name	Formula	$[\alpha]_D$	m.p./°C	Reference
Ximaolide 骨架的二聚西松烷型二萜 1~17 的理化性质					
1	Methyl sartortuoate	C ₄₁ H ₆₂ O ₉			[4]
2	Methyl isosartortuoate	C ₄₁ H ₆₂ O ₈	$[\alpha]_D^{25} + 40.0$ (CHCl ₃)	246~246.5	[5]
3	Nyalolide	C ₄₃ H ₆₆ O ₁₀	$[\alpha]_D^{25} + 98.0$ (CH ₂ Cl ₂)		[11]
4	Desacetylnyalolide	C ₄₁ H ₆₄ O ₉	$[\alpha]_D^{25} + 100$ (CH ₂ Cl ₂)		[11]
5	Diepoxynyalolide	C ₄₁ H ₆₂ O ₈	$[\alpha]_D^{25} + 68.0$ (CH ₂ Cl ₂)		[11]
6	Dioxanyalolide	C ₄₁ H ₆₂ O ₈	$[\alpha]_D^{25} + 5005$ (CH ₂ Cl ₂)		[11]
7	Methyl tortuoate A	C ₄₁ H ₆₂ O ₈	$[\alpha]_D^{25} + 345$ (CHCl ₃)	242~244	[12]
8	Methyl tortuoate B	C ₄₁ H ₆₂ O ₈	$[\alpha]_D^{25} + 84.0$ (CH ₃ OH)	229~231	[13]
9	Methyl tortuoate C	C ₄₁ H ₆₂ O ₈	$[\alpha]_D^{25} + 320$ (CHCl ₃)	235~236	[13]
10	Ximaolide A	C ₄₁ H ₆₂ O ₈	$[\alpha]_D^{20} + 104.9$ (CHCl ₃)	200~202	[6, 7, 14, 15]
11	Ximaolide B	C ₄₁ H ₆₃ O ₈ Cl	$[\alpha]_D^{20} + 110.7$ (CHCl ₃)		[7, 14, 15]
12	Ximaolide C	C ₄₁ H ₆₃ O ₈ Cl	$[\alpha]_D^{20} + 85.5$ (CHCl ₃)		[7, 14, 15]
13	Ximaolide D	C ₄₁ H ₆₂ O ₈	$[\alpha]_D^{20} + 4.1$ (CHCl ₃)		[7, 14]
14	Ximaolide E	C ₄₁ H ₆₂ O ₈	$[\alpha]_D^{20} + 38.4$ (CHCl ₃)	205~207	[7, 14, 15]
15	Ximaolide F	C ₄₃ H ₆₆ O ₁₀	$[\alpha]_D^{20} - 69.0$ (CHCl ₃)		[7, 14, 15]
16	Ximaolide G	C ₄₅ H ₆₈ O ₁₁	$[\alpha]_D^{20} + 104.0$ (CHCl ₃)		[7, 14, 15]
17	Methyl tortuoate D	C ₄₁ H ₆₄ O ₉	$[\alpha]_D^{20} + 195$ (CH ₃ OH)	311~313	[7, 14, 15]
Bisglaucumlide 骨架的二聚西松烷型二萜 18~31 的理化性质					
18	Methyl arcophytoate	C ₄₁ H ₅₈ O ₈	$[\alpha]_D + 157.0$ (CHCl ₃)		[18]
19	Methyl chlorosarcophytoate	C ₄₁ H ₅₉ O ₈ Cl	$[\alpha]_D + 140.0$ (CHCl ₃)		[19]
20	Methyl neosartortuoate acetate	C ₄₃ H ₆₀ O ₉	$[\alpha]_D + 142.0$ (CHCl ₃)		[20]
21	Bisglaucumlide A	C ₄₁ H ₆₀ O ₉	$[\alpha]_D + 110.0$ (CH ₃ OH)		[21]
22	Bisglaucumlide B	C ₄₃ H ₆₂ O ₁₀	$[\alpha]_D + 126.0$ (CH ₃ OH)		[21]
23	Bisglaucumlide C	C ₄₃ H ₆₂ O ₁₀	$[\alpha]_D + 32.0$ (CH ₃ OH)		[21]
24	Bisglaucumlide D	C ₄₃ H ₆₂ O ₁₀	$[\alpha]_D + 4.0$ (CH ₃ OH)		[21]
25	Bisglaucumlide E	C ₄₁ H ₆₀ O ₉	$[\alpha]_D + 66.7$ (CH ₃ OH)		[22]
26	Bisglaucumlide F	C ₄₃ H ₆₂ O ₁₀	$[\alpha]_D + 139$ (CH ₃ OH)		[22]
27	Bisglaucumlide G	C ₄₁ H ₆₀ O ₉	$[\alpha]_D + 125$ (CH ₃ OH)		[22]
28	Bisglaucumlide H	C ₄₁ H ₆₀ O ₉	$[\alpha]_D + 133$ (CH ₃ OH)		[22]
29	Bisglaucumlide I	C ₄₁ H ₆₀ O ₉	$[\alpha]_D + 84$ (CH ₃ OH)		[22]
30	Bisglaucumlide J	C ₄₃ H ₆₂ O ₁₀	$[\alpha]_D + 33$ (CH ₃ OH)		[22]
31	Bisglaucumlide K	C ₄₃ H ₆₂ O ₁₀	$[\alpha]_D + 95$ (CH ₃ OH)		[22]
Bislatumlide 骨架的二聚西松烷型二萜 32~37 的理化性质					
32	Bislatumlide A	C ₄₂ H ₆₂ O ₈	$[\alpha]_D^{20} - 15$ (CHCl ₃)		[8, 23]
33	Bislatumlide B	C ₄₂ H ₆₂ O ₈	$[\alpha]_D^{20} - 15$ (CHCl ₃)		[8, 23]
34	Bislatumlide C	C ₄₄ H ₆₄ O ₉	$[\alpha]_D^{20} + 35.2$ (CHCl ₃)		[8, 23]
35	Bislatumlide D	C ₄₄ H ₆₄ O ₉	$[\alpha]_D^{20} + 40.3$ (CHCl ₃)		[8, 23]
36	Bislatumlide E	C ₄₄ H ₆₄ O ₉	$[\alpha]_D^{20} - 56$ (CHCl ₃)		[8, 23]
37	Bislatumlide F	C ₄₄ H ₆₄ O ₉	$[\alpha]_D^{20} - 74$ (CHCl ₃)		[8, 23]

氧环 β 构型由生源关系推测得出。化合物 **6** 含有新颖罕见的双氧桥结构, 化合物 **3~6** 的结构及相对构型由 MS, 1D NMR, COSY, HSQC, HMBC 和 NOESY 共同确定。

有趣的是, 作者又揭示了化合物 **3~6** 在同一生物体内可能的生物转化关系, 即化合物 **5** 在特定条件下可以转化成化合物 **3, 4, 6**。生物活性研究表明, nyalolide (**3**) 对肿瘤细胞 P-338, A-549, HT-29, MEL-28 均有微弱的细胞毒作用 (GI₅₀ ca. 10 μ mol/L)^[10]。Dioxanyalolide (**6**)

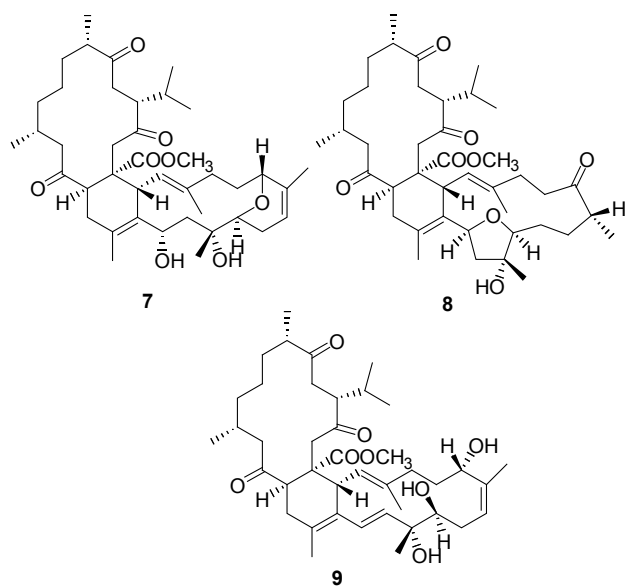
在 1.5 μ g/mL 的浓度下对大肠杆菌有抑制作用。在对盐虾的致死活性实验中, diepoxynyalolide (**5**) 显示显著的致死活性 (LC₅₀ 为 1.5 μ mol/L), desacetylnyalolide (**4**) 仅显示微弱的致死活性^[11]。

3 个二聚西松烷型二萜化合物 methyl tortuoates A~C (**7~9**) 与已知化合物 methyl sartortuoate (**1**) 是由曾晓梅等从中国南海三亚海域 *S. tortuosum* Tix.-Dur. 珊瑚中分离得到。在化学结构上, H-12, H₃-41, H-2 均为 α 构型, A 环与 B 环顺式耦合。化合物 **7~9** 的立体结构(相对构



Scheme 4

型)通过波谱法, 主要由 2D NMR 结合 X 射线单晶衍射确定^[12,13]. Methyl tortuoates A, C 分子结构中都含有 $\Delta^{27(28)}$, NOE 光谱中, H-28 与 H₃-39 显示相关信号, 这确证了 $\Delta^{27(28)}$ 为 Z 型. Methyl tortuoates A~C (7~9) 有 6 个相同的手性中心, 分别为 1R*, 2R*, 5R*, 9S*, 12R*, 21R*. Methyl tortuoates A, B (7, 8) 对人类鼻咽癌细胞株有细胞毒作用, IC₅₀ 分别为 22.7, 24.7 $\mu\text{g/mL}$, 对小鼠白血病 P-388 肿瘤细胞亦有一定的细胞毒作用, IC₅₀ 分别为 3.5, 5.0 $\mu\text{g/mL}$ ^[12].



Scheme 5

在肉芝软珊瑚属中的二聚西松烷型二萜的化学及

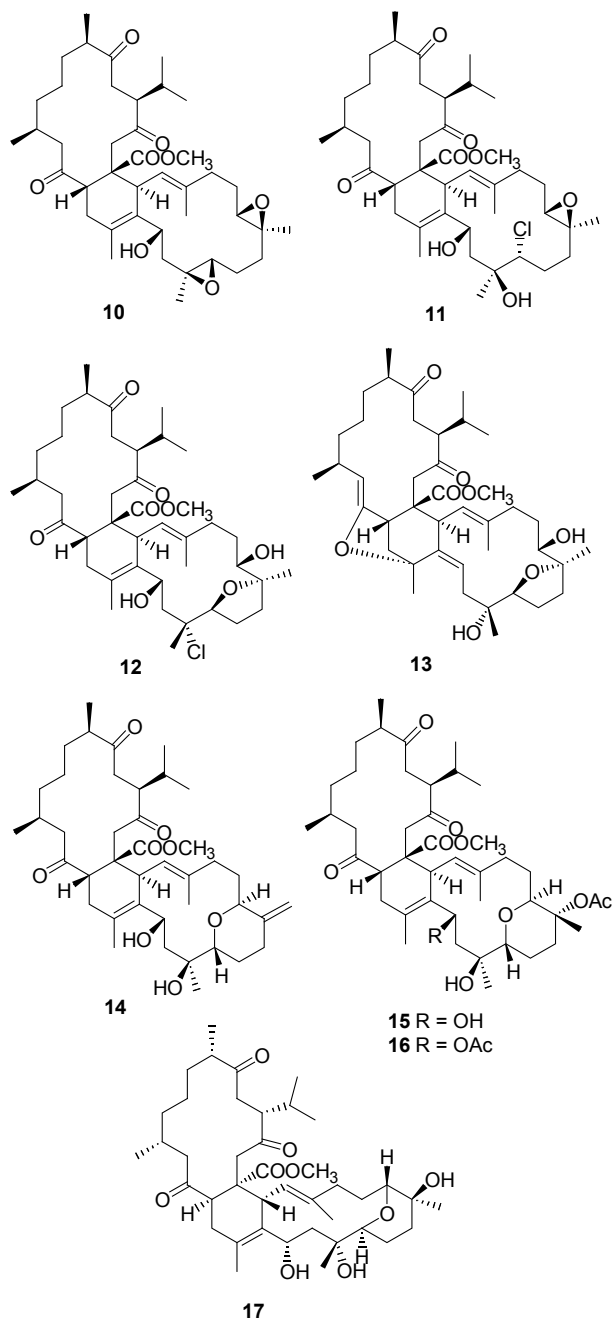
生物活性研究工作中, 我们小组取得了重大进展. 近几年在国际著名期刊上, 我们共报道了 13 个新的二聚二聚体化合物. 利用 MS, 1D, 2D NMR, X 射线单晶衍射结合 ECD/TDDFT 方法在确定此类化合物的绝对构型中也做出了很大贡献. 从中国南海西瑁岛肉芝软珊瑚 *S. tortuosum* 的乙醚浸膏中, 我们成功分离得到 7 个新的二聚西松烷型二萜 ximaolides A~G (10~16) (Scheme 6)^[14,15], 化合物的结构由 MS, 1D, 2D NMR 鉴定得出. 其中化合物 10, 14 的相对构型是通过 X 射线(钨靶)单晶衍射确定, 其它化合物的相对构型是由 NOESY 结合生源关系得以确定. 在化学结构的确定中, 由于 A 环为柔性的 14 元大环, 通过 NOESY 谱或 NOE 差谱来确定其构型有些冒险. C-5, C-9, C-12 的构型亦难通过 NOESY 谱来确定. 在最初的研究过程中, 我们将 ximaolides A~G (10~16) 中 A 环中手性中心的构型定为 α 型是出于生源关系的考虑. C-1, C-2, C-21 的相对构型主要是由 Diels-Alder 反应的机理确定.

Ximaolides A~C (10~12), E, G (14, 15) 具有相同的 A 环和 B 环结构, 手性中心的构型为 1S, 2S, 5S, 9R, 12S, 21S. Ximaolides B, C (11, 12) 分子中都含有氯原子, 我们小组用化学沟通(乙酰化反应)的方法确定了氯原子的连接位置. Ximaolide D (13) 是首次发现的分子中 A 环和 B 环间存在四氢呋喃环的二聚西松烷型二萜化合物, 双键的构型 3Z, 22E, 33E 是由烯丙基的化学位移和 NOESY 谱的相关信号确定.

Ximaolide E (14) 是 methyl tortuoate A 的 $\Delta^{27(39)}$ 双键异构体, 最初其相对构型通过 X 射线单晶衍射确定下来. 我们曾尝试用改进的 Mosher 方法来确定 C-33 的绝对构型确定, 但未成功, 这可能是由于二聚体复杂的空间结构阻碍了 OH 基团与 Mosher 试剂的反应所致.

在最初的研究工作中, 我们确定了 ximaolides A~G (10~16) 的相对构型. 对该类化合物的绝对构型确定, 我们小组一直进行积极努力的探索. 后与匈牙利知名学者 Tibor 合作, 运用 ECD/TDDFT 方法成功的确定了化合物 10~16 的绝对构型^[7]. Ximaolides A~C, E~G 的 ECD(乙腈溶液)光谱具有相似性, 即在 282 与 211 nm 处均有正 Cotton 效应, 在小于 190 nm 处有负 Cotton 效应. 其中 282 nm 处的正 Cotton 效应是由 A 环中 3 个酮羰基 $n \rightarrow \pi^*$ 跃迁产生. Ximaolide D (13) 由于 C-3 的酮羰基被烯醚键取代而显示与 ximaolides A~C, E~G 完全不同的 ECD 光谱.

在早期的研究中, 二聚西松烷型二萜化合物相对构型主要通过 X 射线单晶衍射或 2D NMR 波谱确定. ECD/TDDFT 技术得到应用之前, 二聚西松烷型二萜的绝对构型主要利用 ECD 方法确定. ECD 方法研究该类化合



Scheme 6

物的绝对构型虽然具有可操作性,但它需要具备两个苛刻条件。首先,待测化合物必须具有稳定的优势构象。其次,该方法要求化合物具有生色团,而且生色团处于与不对称碳原子相互有明显关系(或影响)的环境中,即符合附近(vicinity)规则^[16]。由于二聚西松烷型二萜分子结构具有很大柔性,且很多化合物无烯酮生色团,同时存在多种分子构象,所获得的 ECD 色谱是多种构象分子 Cotton 效应的集合,无法将其与确定的一种分子构象相关联,因而难以直接应用圆二色谱 ECD 方法完成此类化合物绝对构型的确定。

ECD/TDDFT 是国际新兴的确定分子绝对构型的方

法。这种技术是建立在理论计算的基础上,以单晶结构为低能量态构象, TDDFT 计算 ECD 光谱并与实测固体 ECD 光谱进行比较。与实测值接近的即为化合物的正确绝对构型,与实测值相反则为单晶结构的对映体。我们小组将此方法成功的应用到二聚西松烷型二萜绝对构型的测定中。在生物活性研究方面,我们也对此类化合物做了大量的生物活性试验,其中化合物 **10~16** 在 20 $\mu\text{g/mL}$ 的浓度下对人类肺癌细胞株 A-549 与小鼠白血病细胞 P-388 均无明显细胞毒作用。在对黄瓜黑星病菌的抗真菌试验中,上述化合物亦无活性。化合物 **15, 16** 在对人类肺癌细胞株 A-549 与小鼠白血病细胞 P-388 和人口腔表皮癌细胞 KB 均没有细胞毒活性^[14,15]。

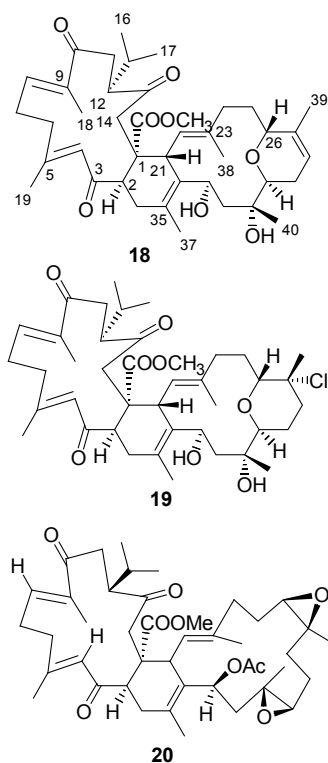
李厚金等^[17]在 DI ESI-MS 方法的指导下,结合天然产物数据库资源,成功的从中国南海 *S. tortuosum* 珊瑚中分离鉴定得到 methyl tortuatoate D (**17**)。DI ESI-MS 方法是一种快速高效的天然产物分离方法。它可以通过分子量的分析,可以快速定位新化合物。MS, 1D, 2D NMR 确定了化合物 **17** 的相对构型。

2 Bisglaucumlide 骨架

与 Ximaolide 骨架不同的是,形成 Bisglaucumlide 骨架的西松烷型二萜是 methyl tortuatoate 的异构体。Diels-Alder 反应的加成片段是 α,β -不饱和酮的 $\Delta^{1(2)}$ 。在化学结构的鉴定中, C-4 和 C-8 的顺反构型是通过一条经验规则^[18]判断得出,即双键所连甲基碳 $\delta < 20$ 为 *E* 型,反之则为 *Z* 型。

Kakisawa 小组^[19]从日本冲绳岛 *S. glaucum* 珊瑚的丙酮提取液中分离得到 methyl sarcophytoate (**18**)和 methyl chlorosarcophytoate (**19**) (Scheme 7)。化合物 **19** 是最早发现的含氯元素的二聚西松烷型二萜,它们的化学结构是由波谱学数据结合化学沟通法来确定的。生物活性研究表明,化合物 **18, 19** 均对人类鼻咽癌 KB 细胞有细胞毒作用, IC_{50} 分别为 7.5, 12.0 $\mu\text{g/mL}$ 。Browden 小组^[20]从澳大利亚敦斯维尔岛屿采集肉芝软珊瑚属 *S. tortuosum* 珊瑚二氯甲烷浸膏中分离得到 methyl neosartortuate acetate (**20**)及形成该化合物的两个前体西松烷二萜化合物 methyl sacoate 和 bisepoxide, 化合物 **20** 的相对构型由 1D, 2D NMR 确定(Scheme 7)。

Iwagawa 等^[21]从日本奄美大岛的肉芝软珊瑚 *S. glaucum* 的甲醇提取液中,分离鉴定得到 bisglaucumlides A~D (**21~24**) (Scheme 8), 这些化合物的绝对构型通过 CD 光谱法与 methyl sarcoate 的 CD 光谱比较确证得出。由于该类化合物分子结构中有 2 个 α,β -不饱和酮发色团, ECD 方法确定该类化合物的绝对构型时具有适用性。其中 Bisglaucumlides A, B (**21, 22**)的 C-4, C-8,

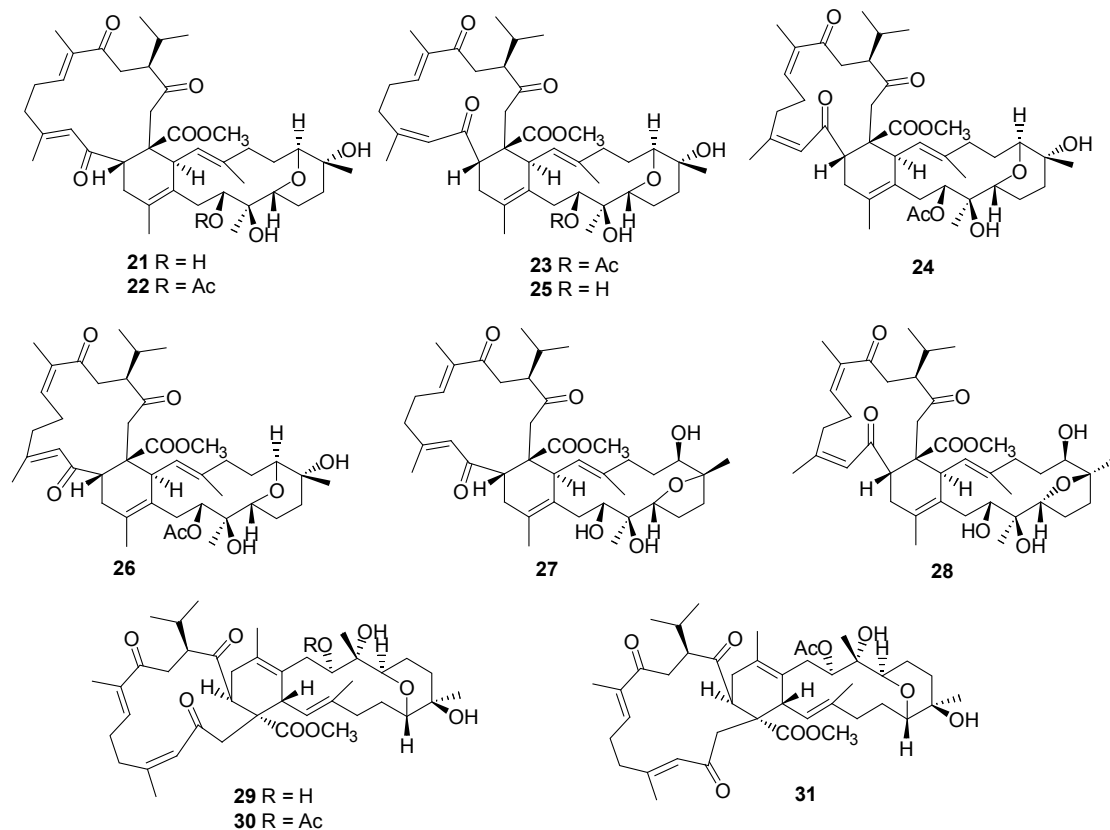


Scheme 7

C-22 的双键构型均为 *E* 型。化合物 **21**, **22** 有相似的 ECD 光谱, 表现为(甲醇溶液)在 250 ($\Delta\epsilon + 2.0$), 220 nm ($\Delta\epsilon -$

5.0) 显示由 α,β -不饱和酮的 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁而引起的正的 Cotton 效应。Bisglaucumlide C (**23**) 是 Bisglaucumlide B (**22**) 的顺反异构体, 与化合物 **22** 相比, 化合物 **23** 的 C-4 为 *Z* 型, H-4 和 H-19 的化学位移分别向高场移动 δ 0.29, 0.18, C-6 和 C-19 分别向高场移动 δ 9.6, 5.9。化合物 **24** 是化合物 **22**, **23** 的顺反异构体。与化合物 **23** 相比, 化合物 **24** 的 H-8 的化学位移向高场移动 δ 0.88, C-8 的化学位移向高场移动 δ 9.9, C-18 的化学位移向低场移动 δ 9.5。Bisglaucumlides C, D (**23**, **24**) 的 ECD 光谱十分相似, 表现为(甲醇溶液中)在 250 nm ($\Delta\epsilon - 10.0$) 显示负 Cotton 效应。药理活性实验研究表明, Bisglaucumlides C, D (**23**, **24**) 对人类早幼粒细胞性白血病细胞 HL-60 有弱的细胞毒作用, IC_{50} 分别表现为 33.7, 42.3 $\mu\text{mol/L}$, Bisglaucumlides A, B (**21**, **22**) 对 HL-60 无细胞毒作用。

在后续采于日本鹿儿岛的同种珊瑚 *S. glaucum* 的二氯甲烷浸膏中, 该小组又分离得到 7 个新的二聚西松烷型二萜 Bisglaucumlides E~K (**25**~**31**) (Scheme 8)。Bisglaucumlides E, H (**25**, **28**) 是由 methyl sarcoate 的 $\Delta^{1(2)}$ 与另一个单体的 $\Delta^{21(34),35(36)}$ 发生 Diels-Alder 加成反应形成。Bisglaucumlides F~H (**26**~**29**) 的结构确定是通过与 Bisglaucumlides A, C 的波谱数据对照得出, 其中 Bisglaucumlide F (**26**) 是 4*E*, 8*Z* 构型的二聚西松烷型二萜化合物的首次报道。Bisglaucumlides G, H (**27**, **28**) 分子结



Scheme 8

构中有横跨于 C-27 至 C-30 的四氢呋喃环。

有趣的是,除 Bisglaucumliides I~K (29~31)外, Bisglaucumliides A~H (21~28)均有相同的环加成过程,即 $\Delta^{1(2)}$ 双键与 20 位乙酰氧基及 3 位羧基形成共轭系统作为亲双烯体, $\Delta^{21(34)}$ 与 $\Delta^{35(36)}$ 作为二烯体与亲二烯体发生 Diels-Alder 环加成反应。Bisglaucumliides I~K (29~31) 的 Diels-Alder 环加成反应前体是 methyl sarcoatede 的异构体,结构中含 $\Delta^{1(14),4(5),8(9)}$ 环加成片段是 $\Delta^{1(14)}$ 与二烯体 $\Delta^{21(34),35(36)}$ 而非传统的 $\Delta^{1(2)}$ 。化合物 29~31 结构中 A 环和 B 环联合的顺反构象是通过分析 Me-41 与 H-14 的 NOE 相关得出,即同为 α 或 β 构型为顺式,反之则为反式。

与 Bisglaucumliides A~D 相似,化合物 Bisglaucumliides E~K (25~31) 的绝对构型亦是通过对 CD 光谱法确证。化合物 24, 27~31 的 CD 光谱与化合物 23, 21 类似。由于同一生物体内生源关系的相似性,可以推定化合物 Bisglaucumlide F (26) 的化学结构的相对构型^[22]。Bisglaucumliides A~K (21~31) 的细胞毒试验表明, Bisglaucumliides E~K (25~31) 对人类早幼粒细胞性白血病细胞 HL-60 的增殖有弱细胞毒作用, IC_{50} 分别为 Bisglaucumliides E (41.0 $\mu\text{mol/L}$), F (13.3 $\mu\text{mol/L}$), G (58.0 $\mu\text{mol/L}$), H (47.8 $\mu\text{mol/L}$), I (44.1 $\mu\text{mol/L}$), K (29.8 $\mu\text{mol/L}$)。

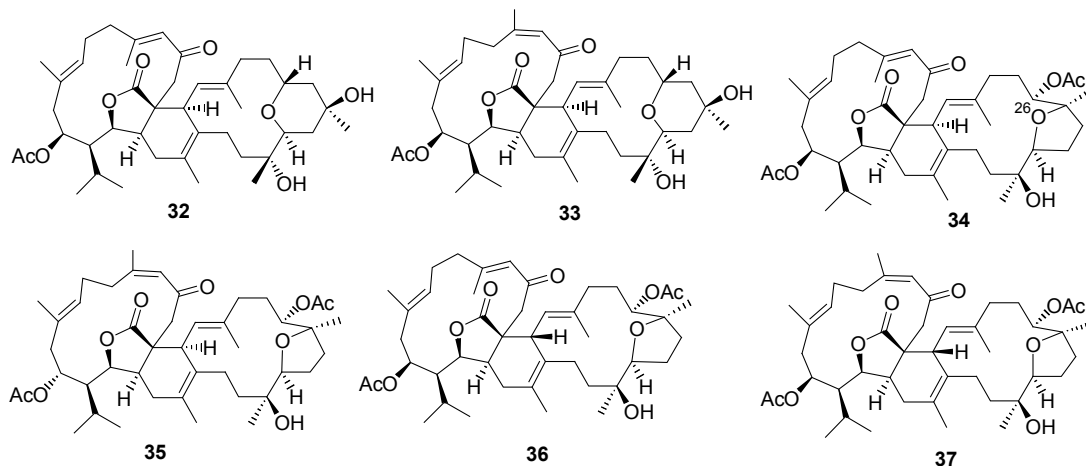
3 Bislatumlide 骨架

Bislatumlide 骨架的二聚西松烷型二萜化合物是我们小组首次报道的新骨架化合物,目前从肉芝软珊瑚中仅分离得到 6 个该类化合物。此类化合物由含 α,β -不饱和和 γ -丁基内酯环的西松烷型二萜通过 Diels-Alder 加成反应形成,共有内型和外型两种加成产物。内型和外型加成产物在化学结构的不同主要表现为 C-21 构型的差别。尤其重要的是,我们小组首次分离得到环外型的二

聚西松烷型二萜,这是自然界和海洋生物天然产物的重大发现。Bislatumlide 骨架新颖有趣,五元内酯环的 $\Delta^{1(2)}$ 双键作为亲二烯体参与二萜二聚体的形成,而不是常见的 $\Delta^{1(14)}$ 双键。分子结构中共含有 A~E 五个环,其中 B 环为 α,β -不饱和和 γ -丁基内酯参与 Diels-Alder 反应形成的五元内酯环, C 环为 Diels-Alder 环加成反应形成的六元环, D 环在 C-26, C-27, C-30 处常形成五元氧环和六元氧环。氧环的连接位置通常由 C-26, C-27, C-30 的 H 和 C 化学位移结合 2D NMR 确定。

我们小组从采于中国海南三亚海域西瑁岛肉芝软珊瑚 *S. latum* 中分离得到互为顺反异构体的 Bislatumlides A, B (32, 33) (Scheme 9)。这是首次从肉芝软珊瑚属中 *S. latum* 发现的此骨架的二聚西松烷型二萜化合物。Bislatumlide A (32) 的双键构型为 7E, 11E, 22E, 34Z, 双键构型是由烯键甲基的化学位移确定,即烯碳甲基 $\delta < 20$ 时双键构型为 E 型,反之则为 Z 型。Bislatumlide B (33) 中双键构型为 7E, 11Z, 22E, 34Z, 其中 11Z 也可通过 NOE 判定,表现为 H-12 与 H₃-19 有强的 NOE 相关信号。鉴于当时仪器设备原因,在 Bislatumlides A, B (32, 33) 的 ¹H NMR 的波谱中, H-33 α 与 H-36 α 的化学位移因相近而发生重叠。在 NOE 光谱中,没有出现 H-1 与 H-21 的相关信号,误把 H-36 α 与 H-21 作为 H-1 与 H-21 的相关 NOE 信号。实际上,在半椅式构型的六元环中,通过 H-1 与 H-4 位的 NOE 信号确定其相对构型是非常困难与冒险的,故当时错误地将 H-1 与 H-21 的立体结构推测为反式^[23]。

在随后的研究中,我们又从同种珊瑚中分离鉴定得到 4 个同一骨架的二聚西松烷型二萜 Bislatumlides C~F (34~37) (Scheme 9)。在结构确定过程中,我们发现 H-21 β 由于与 B 环内酯环互为顺式构象的影响,与 H-21 α 相比, H-21 β 的化学位移值向低场移动 δ 0.4。利用 H-21 的化学位移结合其它波谱学数据,我们纠正了之



Scheme 9

前的错误推测, 将 Bislatumlides A, B (**32**, **33**)的 H-1 与 H-21 的立体构型修正为顺式 α 构型^[8]. 值得强调的是, 我们通过 TDDFT/ECD 计算方法确定了化合物 **32**~**37** 的绝对构型.

在 TDDFT/ECD 方法确定 Bislatumlide 骨架的二聚西松烷型二萜的绝对构型时, 我们发现 CD 光谱具有相似性: 254 nm 处出现由不饱和酮 $n \rightarrow \pi^*$ 跃迁产生负 Cotton 效应, 210 nm 处出现由独立 $\Delta^{22(23)}$ 和 $\Delta^{34(35)}$ 产生的正 Cotton 效应. 鉴于此研究, 我们可以看出: TDDFT/ECD 计算方法在确定二聚西松烷型二萜化合物的绝对构型具有很好的适用性.

Bislatumlides A~F (**32**~**37**)是五元内酯环的 $\Delta^{1(2)}$ 双键与三取代的 $\Delta^{21(34),35(36)}$ 通过 Diels-Alder 加成反应聚合形成的化合物. 根据 Diels-Alder 反应机理, A 环和 D 环在异侧为优势构象, 故环内型加成产物为优势产物. Bislatumlides A, B (**32**, **33**)与 Bislatumlides E, F (**36**, **37**)为环内加成产物, Bislatumlides C, D (**34**, **35**)为环外型加成产物, 化合物 **34**, **35** 是自然界和海洋生物中首次发现天然环外型加成产物.

生理活性研究表明, Bislatumlides A, B (**32**, **33**)对人肺癌细胞株 A-549 和人结肠癌细胞 HT-29 有细胞毒作用, IC_{50} 表现为 7 $\mu\text{g/mL}$, 对小鼠白血病细胞 P-388 亦有细胞毒作用, IC_{50} 为 5.8 $\mu\text{g/mL}$ ^[23]. Bislatumlides C~F (**34**~**37**)亦进行了对人肺癌细胞株 A-549 和人早幼粒白血病细胞 HL-60 的细胞毒实验, 结果表明 Bislatumlides C~F (**34**~**37**)在 20 $\mu\text{g/mL}$ 时不具有细胞毒活性. 其他生理活性试验表明, 化合物 **34**~**37** 亦无抗菌、抗炎活性. 通过分析上述活性结果和化合物结构特点, 我们推测 Bislatumlides A, B 的活性部位可能是六元氧环. 这可为二聚西松烷型二萜类化合物的构效研究提供了模型参考化合物.

迄今为止, 国内外学者共从肉芝软珊瑚属中 *S. glaucum*, *S. elegans*, *S. tortuosum* 中发现了三种骨架的二聚西松烷型二萜化合物. 其中, Ximaolide 及 Bisglaucumlide 骨架的二聚西松烷型二萜体数目较多. 在这两种骨架中, 除 Bisglaucumlides I~K 外, 其他二聚西松烷型二萜化合物均由二烯体 methyl sarcoate(从日本冲绳岛珊瑚 *S. glaucum* 分离所得^[24])或 methyl tortuosoate(由我们小组首次从中国南海珊瑚 *S. tortuosum* 分离得到^[14])经 Diels-Alder 环加成反应形成.

肉芝软珊瑚属中二聚西松烷型二萜化合物的环氧环结构片段普遍存在, 三元环氧环结构存在于化合物 **5**, **10**, **11**, **20**, 五元环氧环存在于化合物 **1**, **6**, **8**, **12**, **13**, **27**, **28**, **34**~**37**, 六元环氧环存在于化合物 **2**~**4**, **7**, **14**~**19**, **21**~**26**, **29**~**33**. 由此可知, 肉芝软珊瑚属中含六元

环氧环的二聚西松烷型二萜的存在比较普遍, 数量较多, 且多分布在肉芝软珊瑚属中 *S. elegans*, *S. tortuosum* 珊瑚种内. 1986 年至 2013 年共从肉芝软珊瑚属中分离得到的 37 个二聚西松烷型二萜化合物, 按其结构类型分为 Ximaolide 骨架, 包括化合物 **1**~**17**. Bisglaucumlide 骨架包括化合物 **18**~**31**. Bislatumlide 骨架包括化合物 **32**~**37**. 为了便于该属珊瑚进一步研究, 以期二聚西松烷型二萜化合物的应用与探索提供参考, 我们根据化合物的骨架分类, 分别将其旋光值、熔点等理化常数列于表 2.

4 展望

综上所述, 肉芝软珊瑚属珊瑚中含有丰富的结构新颖、生物活性多样的次级代谢产物, 尤其是罕见的二聚西松烷型二萜类化合物. 近年来, 随着分离、分析技术的飞速发展, 通过多种二维核磁共振技术、高分辨质谱及 X 射线单晶衍射等方法, 新化合物的纯化与鉴定不再是海洋天然产物研究的障碍, 二聚西松烷型二萜类化合物的研究也得到迅速发展. 该类化合物的绝对构型可通过 X 射线单晶衍射或 ECD/TDDFT 方法得以确定. 同时, 分子水平的生物活性筛选模型及高通量筛选技术的建立, 这为二聚西松烷型二萜类化合物的生物活性的研究提供了技术保障.

为了充分利用海洋中肉芝软珊瑚属珊瑚资源, 一方面要加快对其粗提物中可能成为新药候选药物的化合物的分离和鉴定工作. 同时要提高极端环境下的生物采集技术水平. 另一方面要注重跨学科的合作与交流, 如生物与药理学科. 广泛筛选新化合物的活性, 寻找药效先导化合物. 利用生物技术调控的 DNA 片段从而达到使珊瑚优先产生某种特殊意义的化合物. 再者加强与有机学科的合作, 深入进行目标活性化合物的全合成以及构效关系研究, 解决天然产物量少且得率低的问题. 相信会有越来越多的先导化合物得到不断的开发和利用, 以期为人类的健康事业做出贡献.

References

- [1] Zou, R.-L. *Fauna of China*, Vol. 2, Science Press, Beijing, **2001**, p. 8367 (in Chinese). (邹仁林, 中国动物志, 第 2 卷, 科学出版社, 北京, **2001**, p. 8367.)
- [2] Anjaneyulu, A. S. R.; Rao, G. V. *J. Indian Chem. Soc.* **1997**, *74*, 272.
- [3] Liang, L.-F.; Guo, Y.-W. *Chem. Biodiversity* **2013**, DOI: 10.1002/cbdv.201200122.
- [4] Su, J.-Y.; Long, K.-H.; Pang, T.-S.; He, C.-H.; Clardy, J. *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 177.
- [5] Su, J.-Y.; Long, K.-H.; Peng, T.-S.; Zeng, L.-M.; Zheng, Q.-T.; Lin, X.-Y. *Sci. Sin., Ser. B* **1988**, *31*, 1172.
- [6] Li, Y.-F.; He, L.-L.; Liu, H.-L.; Liang, L.-F.; Guo, Y.-W. *J. Asian*

- Nat. Prod. Res.* **2013**, *5*, 566.
- [7] Kurtán, T.; Jia, R.; Li, Y.; Pescitelli, G.; Guo, Y.-W. *Eur. J. Org. Chem.* **2012**, *34*, 6722.
- [8] Jia, R.; Kurtán, T.; Mándi, A.; Yan, X.-H.; Zhang, W.; Guo, Y.-W. *J. Org. Chem.* **2013**, *78*, 3113.
- [9] Ichige, T.; Okano, Y.; Kanoh, N.; Nakata, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 9862.
- [10] Feller, M.; Rudi, A.; Berer, N.; Goldberg, I.; Stein, Z.; Benayahu, Y.; Schleyer, M.; Kashman, Y. *J. Nat. Prod.* **2004**, *67*, 1303.
- [11] Bishara, A.; Rudi, A.; Benayahu, Y.; Kashman, Y. *J. Nat. Prod.* **2007**, *70*, 1951.
- [12] Zeng, L.-M.; Lan, W.-J.; Su, J.-Y.; Zhang, G.-W.; Feng, X.-L.; Liang, Y.-J.; Yang, X.-P. *J. Nat. Prod.* **2004**, *67*, 1915.
- [13] Lan, W.-J.; Li, H.-J.; Yan, S.-J.; Su, J.-Y.; Zeng, L.-M. *J. Asian Nat. Prod. Res.* **2007**, *9*, 267.
- [14] Jia, R.; Guo, Y.-W.; Chen, P.; Yang, Y.-M.; Mollo, E.; Gavagnin, M.; Cimino, G. *J. Nat. Prod.* **2007**, *70*, 1158.
- [15] Jia, R.; Guo, Y.-W.; Mollo, E.; Gavagnin, M.; Cimino, G. *Helv. Chim. Acta* **2008**, *91*, 2069.
- [16] Minkin, V. I.; Legrand, M.; Rougier, M. *J. Stereochemistry*, Vol. 2, Stuttgart, Thieme, **1977**, 42.
- [17] Lan, W.-J.; Wang, S.-L.; Li, H.-J. *Nat. Prod. Commun.* **2009**, *4*, 1193.
- [18] Jia, R.; Guo, Y.-W.; Mollo, E.; Gavagnin, M.; Cimino, G. *J. Nat. Prod.* **2006**, *69*, 819.
- [19] Kusumi, T.; Igari, M.; Ishitsuka, M. O.; Ichikawa, A.; Itezono, Y.; Nakayama, N.; Kakisawa, H. *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 6286.
- [20] Leone, P. A.; Browden, B. F.; Carroll, A. R.; Coll, J. C.; Meehan, G. V. *J. Nat. Prod.* **1993**, *56*, 521.
- [21] Iwagawa, T.; Hashimoto, K.; Okamura, H.; Kurawaki, J.; Nakatani, M.; Hou, D.-X.; Fujii, M.; Doe, M.; Morimoto, Y.; Takemura, K. *J. Nat. Prod.* **2006**, *69*, 1130.
- [22] Iwagawa, T.; Hashimoto, K.; Yokogawa, K.; Okamura, H.; Nakatani, M.; Doe, M.; Morimoto, Y.; Takemura, K. *J. Nat. Prod.* **2009**, *72*, 946.
- [23] Yan, X.-H.; Gavagnin, M.; Cimino, G.; Guo, Y.-W. *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 5313.
- [24] Ishitsuka, M. O.; Kusumi, T.; Kakisawa, H. *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 2917.

(Li, L.)